QUÍMICA E BIOQUÍMICA:

fundamentos e aplicações 2

CLEISEANO EMANUEL DA SILVA PANIAGUA
(Organizador)

Ano 2024

QUÍMICA E BIOQUÍMICA:

fundamentos e aplicações 2

CLEISEANO EMANUEL DA SILVA PANIAGUA
(Organizador)

Ano 2024

CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA E ENGENHARIAS

Química e bioquímica: fundamentos e aplicações 2

Diagramação: Ellen Andressa Kubisty
Correção: Maiara Ferreira
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Organizador: Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Q6 Química e bioquímica: fundamentos e aplicações 2 / Organizador Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2024.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-258-2282-2
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.822242703

1. Química. 2. Bioquímica. I. Paniagua, Cleiseano Emanuel da Silva (Organizador). II. Título.

CDD 540

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

O e-book: "Química e bioquímica: fundamentos e aplicações 2" é composto por quatro capítulos de livros que procuraram investigar: *i)* a produção de batom artesanal como estratégia de aprendizagem no ensino de química por intermédio da experimentação química; *ii)* a avaliação e análise do desempenho da qualidade de água para fins potáveis produzida pelo Sistema de Abastecimento de Água em Recife/PE; *iii)* a análise do perfil cinético de galactooligossacarídeos produzidos pela enzima de *Kluyveromyces lactis* (*K. lactis*) e; *iv)* a investigação do potencial trombolítico de enzimas microbianas no tratamento de trombose.

O primeiro capítulo avaliou uma nova formulação de batom artesanal sem a presença de chumbo na composição química, para fins de melhorar o processo de ensino-aprendizagem na disciplina de química, a partir do estilo de aprendizagem de Kolb que trabalha o diálogo, a discussão e a indagação que contribuem para a formação do cidadão consciente e com senso de criticidade e pertencimento tanto a sociedade, quanto ao ambiente no qual se encontra inserido.

O capítulo 2 demonstrou a aplicação de um sistema de indicador de desempenho na avaliação da qualidade de água potável distribuída pelo Sistema de Abastecimento de Água (SAA), no qual se avaliou quatro parâmetros físico-químicos e biológicos, a saber: Turbidez, Cloro residual livre, Coliformes Totais e *Escherichia coli.* Os resultados possibilitaram averiguar deficiências e baixo desempenho no SAA.

O terceiro capítulo realizou um estudo cinético da produção de galactooligossacarídeos (GOS) a partir do soro de leite utilizando a enzima β-galactosidase produzida pelo micro-organismo *Kluyveromyces lactis (K. lactis).* Os resultados revelaram que *K. lactis* possui a capacidade de produzir dez vezes mais GOS do que a lactose pura após 120 min de reação e que em 240 min, a enzima havia convertido completamente a lactose.

Por fim, o capítulo 4 investigou o potencial das enzimas fibrinolíticas e fibrogenolíticas como alternativa promissora ao tratamento de doenças cardiovasculares associadas à trombose. Verificou-se que as enzimas investigadas e que podem ser obtidas de fontes microbianas, se apresentam como alternativa promissora e capaz de avançar em novas estratégias terapêuticas e produção de novos medicamentos, reduzindo o índice de doenças cardiovasculares ocasionados pela trombose.

Nesta perspectiva, a Atena Editora vem trabalhando de forma a estimular e incentivar cada vez mais pesquisadores do Brasil e de outros países, a publicarem seus trabalhos com garantia de qualidade e excelência em forma de livros, capítulos de livros e artigos científicos.

Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

PRODUÇÃO ARTESANAL DE BATOM: USO DO ESTILO DE APRENDIZAGEM DE KOLB NO ENSINO DE QUÍMICA

Data de submissão: 06/03/2024 *Data de aceite: 01/04/2024*

Marcos Antonio Leal Souza
Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Rio de Janeiro - RJ
https://acesse.dev/VwdF5

Elizabeth Teixeira de Souza
Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Aplicação Fernando Rodrigues da Silveira, Departamento de Ciências da Natureza
Rio de Janeiro - RJ
https://bityli.cc/uwD

Thaís Malcher dos Santos Costa
Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Instituto de Aplicação Fernando Rodrigues da Silveira, Departamento de Ciências da Natureza
Rio de Janeiro - RJ
https://l1nq.com/TnuM0

Josineide Alves da Silva
Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Instituto de Aplicação Fernando Rodrigues da Silveira, Departamento de Ciências da Natureza
Rio de Janeiro - RJ
https://acesse.dev/zmxjB

Carlos Augusto Vidotto
Universidade Federal Fluminense, Niterói
Rio de Janeiro -RJ
https://encr.pw/gnmvv

RESUMO: O presente trabalho apresenta uma nova fórmula para a produção artesanal de batom que evita a contaminação por metais pesados e discute seu ensino à luz dos estilos de aprendizagem de Kolb. A produção artesanal aproxima consumidores e produtores, incentivando a apreciação da singularidade própria dessa produção, além de promover a conscientização sobre a contaminação em cosméticos usados no cotidiano. A teoria de Kolb, por sua vez, ao mesmo tempo em que cria situações práticas e laboratoriais alinhadas ao aprendizado experiencial, incorpora discussões reflexivas e teóricas que ampliam a compreensão dos princípios químicos. Espera-se, com isso, fortalecer o ensino da química como uma ferramenta transformadora e capaz de formar um cidadão consciente, apto a intervir na sociedade de forma positiva, desenvolvendo o senso de pertencimento e o ímpeto de cuidar não só da escola que frequenta, mas também do mundo que vive.
PALAVRAS-CHAVE: Experimentação; metodologia ativa; Educação Básica; protagonismo juvenil; estilos de aprendizagem.

ABSTRACT: This paper presents a new formula for the handmade production of lipstick that avoids contamination by heavy metals and discusses its teaching in the light of Kolb's learning styles. Handmade production brings consumers and producers closer together, encouraging appreciation of the uniqueness of this production, as well as raising awareness of contamination in cosmetics used in everyday life. Kolb's theory, in turn, while creating practical and laboratory situations aligned with experiential learning, incorporates reflective and theoretical discussions that broaden the understanding of chemical principles. It is hoped that this will strengthen the teaching of chemistry as a transformative tool, capable of forming an aware citizen who is able to intervene in society in a positive way, developing a sense of belonging and the impetus to take care not only of the school they attend, but also of the world they live in.
KEYWORDS: Experimentation; active methodology; Basic Education; youth protagonism; learning styles.

INTRODUÇÃO

O hábito de pintar o rosto vem da pré-história. Há registros de que o homem de Neandertal pintava sua face de vermelho, marrom e amarelo, com substâncias à base de argila, lama e sais de arsênio (Kumar, 2005). Os egípcios pintavam os olhos com um pigmento preto, composto por sais de antimônio e recorriam à gordura animal, cera de abelha, mel e leite no preparo de cremes para proteger a pele das altas temperaturas (Hardy, 2006).

Os primeiros registros do uso de pigmentos na boca datam dos egípcios, que recorriam a plantas e minerais como tinta. As mulheres gregas incorporaram essa técnica ao uso de frutas, como uvas, e gordura de animal para colorir os lábios. Rodrigues e Silva (2017) destacam que o batom moderno surgiu com o perfumista francês Rhocopis que, em 1883, criou o "bâton serviteur" (literalmente, bastão servidor). Composto de uma massa de talco, óleo de amêndoas, essência de bergamota e limão, de cor vermelha, era inicialmente vendido numa embalagem de papel de seda. Só a partir de 1915, o batom passou a ser produzido na forma sólida em tubos cilíndricos como conhecemos hoje (Baki, 2015).

Após a Segunda Guerra Mundial a indústria cosmética ganhou força. Além disso, com a popularização do cinema desde os anos 1930, o hábito de colorir os lábios volta a ser adotado tanto pelas artistas de cinema quanto pela população feminina de forma geral (Ribeiro, 2010). Entretanto, um dos grandes problemas dessa realidade é que, por razões fundamentalmente econômicas, a produção industrial envolve a utilização de componentes potencialmente tóxicos, que exercem um efeito cumulativo no organismo – como o chumbo, um tipo de metal pesado.

Diante disso, a preocupação deste capítulo do presente livro desdobra-se em duas direções. Numa delas, oferece-se uma alternativa relacionada à produção de batom e, na outra, discute-se uma alternativa pedagógica para impulsionar sua popularização a

partir do ensino da Química (ao mesmo tempo em que busca fortalecer esse ensino como instrumento de desenvolvimento da cidadania).

O trabalho divide-se em seis seções, além desta Introdução. A próxima apresenta os fundamentos da alternativa pedagógica mencionada. A segunda seção trata de aspectos sanitários do batom e uma nova proposta de formulação. A terceira discute materiais e o método proposto para sua produção. A seção quarta resume seus resultados, a quinta levanta algumas discussões sobre eles e a sexta e última conclui o capítulo.

ESTILOS DE APRENDIZAGEM, DE KOLB

Muito se fala sobre estilos de aprendizagem e como eles auxiliam no processo de aprendizagem, na construção de habilidades, obtenção de conhecimento e atitudes para a resolução de problemas. O conhecimento sobre os diferentes estilos de aprendizagem é uma ferramenta de vital importância para professores e instituições de ensino, já que todos os indivíduos possuem um estilo próprio para aprender fatos novos (Schmitt, 2016).

Nessa perspectiva, a teoria de Kolb vem se destacando e sendo objeto de estudos em diversos artigos científicos em áreas distintas de conhecimento. David Allen Kolb é um teórico educacional americano que afirma ser necessário observar como o indivíduo aprende e qual sua preferência de aprendizado para a construção do conhecimento e que estilo a pessoa adota para aprender o novo (Figueiredo, 2022). A partir disso ele defende que o processo pelo qual o conhecimento é criado acontece por meio da transformação da experiência, por isso suas ideias muitas vezes são chamadas de teoria experiencial (Arriaza, 2016). O teórico ainda destaca que o conhecimento resulta da combinação entre obter e transformar a experiência. Para ele, a aprendizagem experiencial se dá por meio de estágios e estilos (Jesus, 2019).

Trevelin define estilo de aprendizagem como a forma que cada indivíduo se concentra, processa, internaliza e retém a informação durante o processo de aprendizagem e isso envolve fatores cognitivos, afetivos e físicos (Trevelin, 2011). O próprio Kolb destaca que o estilo de aprendizagem de cada pessoa origina-se da composição de um estágio “perceber” e de outro, que é “processar”. A maneira de perceber um dado ou uma informação relaciona-se, num momento, com a experiência concreta que significa viver determinada experiência e, em outro, com a conceituação abstrata que significa, pensar. A forma de internalizar e processar a informação, por seu turno, relaciona-se com a experimentação ativa, que envolve o fazer e a observação reflexiva (Kolb, 1984).

Kolb propõe quatro estágios para compor uma aprendizagem eficaz. A ‘experiência concreta’ refere-se a quando se faz algo e se aprende sentindo e se envolvendo. A ‘observação reflexiva’ ocorre quando se analisa e avalia, pois se aprende observando, refletindo e escutando. A ‘conceituação abstrata’ corresponde à generalização e elaboração de hipóteses, fazendo uso do raciocínio lógico, criação de ideias e sistematização. Por

fim, a ‘experimentação ativa’ ocorre quando a aprendizagem é aplicada na realidade e se aprende por meio da ação, da tomada de decisão, tendo sua ação planejada buscando influenciar o meio (Santos, 2017).

Esses quatro estágios, combinados em pares, de forma cíclica, resultam nos 4 estilos de aprendizagem (Figura 1):

1. *Divergente*: é a combinação entre os estágios, experiência concreta e observação reflexiva, sendo marcado pela imaginação, criatividade, capacidade de examinar as situações com diferentes ângulos, experimentar situações concretas e explorar novas oportunidades.
2. *Assimilador*: é a combinação entre os estágios, observação reflexiva e conceituação abstrata, destaca-se pela criação de modelos teóricos se caracteriza pela experimentação de novas ideias, coleta e agrupamento de informações usando o pensamento crítico.
3. *Convergente*: é a combinação entre os estágios, observação reflexiva e experimentação ativa. Seu ponto alto é a solução de problemas, estudo com lógica das ideias, e aplicação de ideias na prática.
4. *Acomodador*: é a combinação entre os estágios, experimentação ativa e experiência concreta, destacando-se pela execução, experimentação, execução de planos, envolvimento em experiências novas e desafiadoras.

Figura 1: fluxograma do ciclo de aprendizagem proposto por Kolb. Elab: autora.

Kolb considera os estágios e estilos de aprendizagem como indissociáveis, ou seja, para alcançar os estilos é preciso combinar os estágios que podem iniciar em qualquer uma de suas fases, transitar e combiná-los, formando assim um estilo (Domingues, 2022). A aprendizagem pela experiência exige apreensão, transformação para aprender, absorver,

resolver e devolver o conhecimento para o meio. A forma de aprender está ligada a ações que necessitam do ser humano, de sua capacidade de experimentar e refletir a ação, construindo e desconstruindo o conhecimento (Reis, 2012).

Com esses elementos conceituais da teoria da aprendizagem será possível, na seção seguinte, discutir uma possibilidade de aplicação visando direcionar o aprendizado de um conjunto de alunos do ensino básico.

BATOM: EXIGÊNCIAS SANITÁRIAS DE UMA NOVA COMPOSIÇÃO

Atualmente, no Brasil, de acordo com a Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), o setor de cosméticos, englobando produtos de higiene, cosméticos e perfumes, refere-se a "preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas de uso externo nas diversas partes do corpo humano tais como pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência, corrigir odores corporais, protegê-los ou mantê-los em bom estado" (Anvisa, 2024). Os cosméticos labiais, dentre eles o batom, foram classificados pela Agência na categoria 2 (cosméticos) e grau 1 (produtos com risco mínimo).

De acordo com Draelos (2001), o batom possui diversas funções como realçar a coloração dos lábios ou pigmentá-los. Devido sua composição graxa, forma uma película protetora, que acaba por proteger os lábios de queimaduras solares, lubrificando-os e disfarçando imperfeições indesejadas. Segundo esse autor, os batons constituem-se de misturas sólidas lipídicas, cuja formulação básica inclui óleos vegetais, manteigas, ceras, conservantes, essências e pigmentos. Os pigmentos inorgânicos mais usados são óxidos metálicos como óxidos de ferro, cromo, zinco, titânio entre outros. Também são usados corantes orgânicos lipossolúveis, como os corantes para chocolate.

A produção industrializada não ocorre sem riscos. Os corantes e pigmentos inorgânicos são os responsáveis pela coloração desejada, pela fixação e durabilidade do cosmético labial, embora os principais componentes desses pigmentos inorgânicos e corantes sejam óxidos metálicos, que nem sempre apresentam a pureza adequada e acabam por incluir elementos metálicos indesejados no produto cosmético que foi produzido, como o chumbo (Holanda, 2023).

O chumbo é apontado pela Organização Mundial da Saúde como um dos elementos químicos mais perigosos à saúde humana, pois ele afeta praticamente todos os órgãos e sistemas do corpo humano (CEVS-RS, 2024). Os principais danos são vistos no sistema nervoso central, na medula óssea e nos rins, considerados lugares críticos de exposição ao metal (Moreira, 2004).

A presença do chumbo no organismo pode desencadear quadros de anemia, encefalopatia, cefaleia, alucinações, perda de memória, convulsões, paralisia, deficiência

renal, hepatotoxicidade e neoplasias (Soares, 2024). O chumbo também tem sido associado com a redução da fertilidade feminina e masculina e com a ocorrência de abortos espontâneos. Em mulheres grávidas, tal elemento pode atravessar a placenta, prejudicando o perfeito desenvolvimento do feto (Moreira, 2004). A Anvisa regulamenta que o valor permitido para presença de chumbo em cosméticos é de 20 $mg.kg^{-1}$

De qualquer forma, seja produzida sobre bases industriais ou outra, a formulação de um batom deve atender atributos como estabilidade térmica, estabilidade à ruptura sem dureza excessiva, aparência homogênea, superfície lisa e cor uniforme, capacidade de manter a hidratação, odor e sabor agradáveis; além disso deve ser inerte pois, caso ingerido, não causará danos ao corpo humano (Rodrigues, 2017).

Na formulação proposta neste trabalho, o corante usado na fabricação do batom é o corante comestível, em pó da marca MIX, para chocolate. Sendo uma formulação lipossolúvel e livre de óxidos é possível garantir que não existirá o contaminante metálico. O batom será produzido através da mistura de manteiga de cacau, cera de abelha, lanolina, óleo rícino, essência e corante em pó para chocolate. Convém sublinhar que essa formulação inédita evita a utilização de metais pesados, encontrados no produto industrial padrão. A seguir, discutimos algumas características do uso desses ingredientes.

A lanolina é excelente para evitar a perda de água, mantendo a pele hidratada por mais tempo. Nesse sentido, ela atua como umectante e emoliente e auxilia na elasticidade da pele (Giovanini, 2019).

Outro ingrediente é a cera de abelha. Essa cera, em si mesma uma mistura, possui propriedades antialérgicas e é composta principalmente de ácidos graxos de cadeia longa como ácido palmítico, palmitoleico, oleico e oróitico.

A manteiga de cacau, por sua vez, é uma gordura comestível natural, proveniente da semente de cacau e tem apenas um leve sabor e aroma desse fruto. É uma das gorduras mais estáveis, contendo antioxidantes naturais que evitam que ela se torne rançosa, permitindo sua estocagem por um prazo de 2 a 5 anos (Holanda, 2023). Os três principais ácidos graxos encontrados na manteiga de cacau são o ácido palmítico, ácido esteárico e o ácido oleico, representados na figura 2a.

Por último, o óleo rícino é um óleo vegetal extraído da mamona que possui como principal constituinte, o ácido ricinoleico (Reis, 2016). A fórmula bastão de alguns componentes desses ingredientes está destacada na figura abaixo.
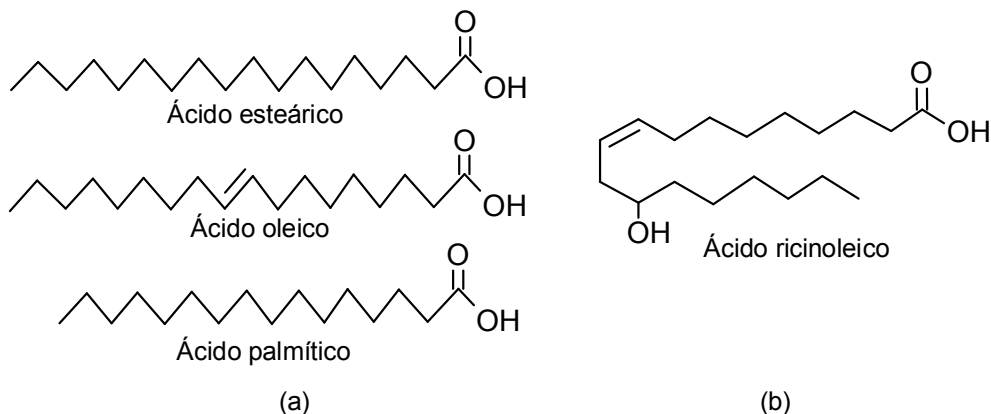
Figura 2: Principais componentes da manteiga de cacau (a) e do óleo rícino (b). Elab: autora.

MATERIAIS E MÉTODO PROPOSTO

A confecção artesanal de batom sólido proposta atende a uma formulação que visa, além dos aspectos sanitários há pouco mencionados, facilitar o uso de experimentação nas aulas de Química com apoio no conceito de estilos de aprendizagem, de Kolb. Ademais, pretende divulgar cientificamente o preparo do cosmético sólido, que poderá ser aplicado em qualquer série do ensino médio e do 9° ano (última série do ensino fundamental II).

Os possíveis conteúdos para serem abordados no 9° ano seriam: unidades de medida-massa, volume e temperatura; estados de agregação da matéria e suas transformações; substâncias e misturas. Para a 1° série do ensino médio seriam: ligações Interatômicas e intermoleculares; polaridade; geometria; tipos de fórmulas; relações numéricas. Ainda para a 2° série do ensino médio teríamos: introdução à química orgânica; composição dos compostos orgânicos; número de oxidação do carbono; classificação dos carbonos; classificação dos hidrogênios; classificação das cadeias carbônicas; tipos de fórmulas: estrutural plana, condensada, em bastão e molecular; funções orgânicas. Finalmente, para a 3° série do ensino médio, haveria: polímeros e biomoléculas.

Após o docente realizar a certificação de que os conteúdos a serem abordados já foram aplicados em sala de aula, o experimento poderá ser realizado com os alunos. A proposta inicial do roteiro corresponde a uma receita com rendimento de 20 frascos de acrílico com tampa de rosquear, cabendo 4g de produto por unidade.

Entre os materiais utilizados inclui-se um fogão elétrico de 1 boca ou manta de aquecimento, panela, balança digital com precisão 0,01, frasco de acrílico com tampa de rosquear, espátula de silicone, 1 bécher de 500 mL, 6 vidros de relógio e uma proveta de 50 mL. Os reagentes necessários foram 22 g de cera de abelha, 31 g de lanolina, 18 g de manteiga de cacau, 34 g (40 mL) de óleo rícino, 0,18g (10 gotas) de essência e 12 g de corante em pó para chocolate. As quantidades percentuais são: 19% de cera de abelha,

26,5% de lanolina, 15,4% de manteiga de cacau, 29% de óleo rícino, 0,1% de essência e 10% de corante em pó para chocolate.

O procedimento experimental segue o seguinte roteiro: (1) coloque os óculos de proteção, as luvas e a máscara; (2) pese todos os ingredientes no vidro de relógio com auxílio das espátulas e balança; (3) adicione os ingredientes no bécher de 500 mL; (4) adicione cerca de 300 mL de água da torneira em uma panela pequena, ligue o aquecimento e insira o bécher com a mistura em banho-maria; (5) mexa com a espátula de silicone até a fusão completa, de modo que não haja mais materiais separados; (6) desligue o fogo e aguarde 2 minutos; (7) adicione o corante e a essência e misture bem e adicione a mistura nos frascos de acrílico; (8) aguarde cerca de 15 minutos e já estará pronto para uso. A Figura 3 apresenta o resultado final da fórmula desenvolvida.
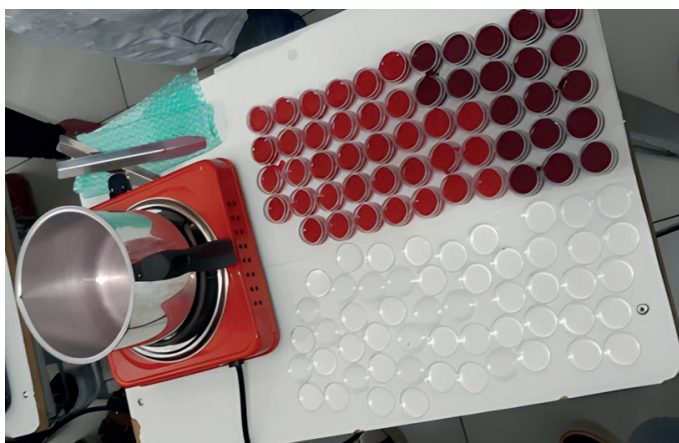
Figura 3: Batons produzidos com a fórmula descrita no trabalho. Elab: autora.

Por fim, o/a professor(a) da disciplina poderá aplicar um questionário baseado no tópico da química escolhido após a realização da prática para que possa ser avaliado a evolução do aluno no conteúdo e a produtividade do experimento.

RESULTADOS

Os resultados esperados são diversos. Pretende-se com o uso da experimentação vinculada aos estilos de aprendizagem de Kolb que os alunos consigam reconhecer a Química como uma ferramenta que facilita e ajuda a melhorar a vida em sociedade. À medida que os alunos se envolvem em experimentos práticos, eles não apenas aplicam conceitos abstratos, mas também testemunham a relevância direta da química em sua vida cotidiana.

Essa conexão entre teoria e prática fortalece o entendimento conceitual e inspira um senso de propósito, reconhecendo como a Química se relaciona com questões ambientais, tecnológicas e de saúde. Pretende-se também inserir o educando numa

posição de protagonista do seu processo de aprendizagem, resultando no estímulo da criatividade, desenvolvimento da consciência social e troca de informações. Por fim, espera-se desenvolver o senso de pertencimento e o ímpeto de cuidar não só da escola que frequenta, mas também da comunidade que mora, bem como do mundo que vive.

DISCUSSÃO

A experimentação gera um ambiente descontraído e investigativo e isso não apenas torna a aprendizagem mais atraente, mas também prepara os alunos para se tornarem cidadãos críticos e engajados. Eles são capacitados a analisar problemas complexos, buscar soluções inovadoras e contribuir de maneira significativa para a sociedade. Essa abordagem educacional não apenas transmite conhecimento, mas molda atitudes e valores, culminando na formação de indivíduos conscientes, éticos e capazes de fazer uma diferença positiva em um mundo de constante evolução.

Já os estilos de aprendizagem de Kolb aliados à experimentação potencializam o processo ensino aprendizagem dos educando, pois no estilo convergente as habilidades predominantes são conceituação abstrata e experimentação ativa e algumas características são: raciocínio hipotético-dedutivo e concentração em problemas específicos, que são extensivamente trabalhadas durante a realização de um experimento em grupo na etapa de aplicação do método científico, onde primeiro se observa, questiona, formula hipóteses, realiza o experimento em seguida conclui-se algo, já no estilo divergente a experiência concreta e observação reflexiva se destacam como habilidades predominantes sendo caracterizado pela forte capacidade de imaginação, interessam-se por pessoas, melhor desempenho em situações de geração de ideias, tendem a ser emotivos, estilo característico de liderança, características interessantes para liderar e conduzir um experimento em grupo.

Também temos o estilo assimilador no qual a conceituação abstrata e observação reflexiva se destacam. Além disso é marcado pelas características: raciocínio indutivo, capacidade de criar modelos teóricos, assimilar observações soltas e transformá-las numa explicação integrada, habilidades extremamente necessárias durante uma aula experimental. E por último o estilo acomodador que foca na experiência concreta e experimentação ativa e se caracteriza por executar planos e experimentos, tendem a ser mais ousados e arriscarem mais e por isso se destacam em situações nas quais precisem adaptar-se em circunstâncias imediatas específicas, um integrante assim pode trazer muitas contribuições para o experimento realizado em grupo.

Vale ressaltar que é necessário que o docente tenha pleno conhecimento de seus alunos, e de que forma cada um prefere aprender algo novo, assim será possível montar grupos onde tenha pelo menos um aluno com um tipo diferente de estilo de aprendizagem de Kolb a fim de potencializar o processo ensino aprendizagem.

CONCLUSÕES

Espera-se que com o uso da experimentação vinculada aos estilos de aprendizagem de Kolb, os alunos consigam reconhecer a Química como uma ferramenta que facilita e ajuda a melhorar a vida em sociedade, além de perceber que tal intervenção didática pode proporcionar um ambiente lúdico e investigativo de aprendizagem baseado na dialogicidade, discussão e indagação, contribuindo para a formação de um cidadão consciente, capaz de intervir positivamente na sociedade em que vive. E, ainda, atender a diversidade de estilos de aprendizagem que se destacam em uma sala de aula contribuindo para a adequação de metodologias e abordagem diferenciadas.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Disponível: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/cosmeticos> Acesso em: 2 de março de 2024.

BAKI, G.; ALEXANDER, K. S. **Introduction to cosmetic formulation and technology, editora John Wiley & Sons**, Hoboken, New Jersey, 2015.

Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Rio Grande do sul/ CEVS-RS, Disponível: <https://cevs.rs.gov.br/chumbo> Acesso em: 3 de março de 2024.

DOMINGUES, A. N.; HILÁRIO, J. S. M.; MELLO, D. F.; MORENO, A.I.P.; FONSECA, L. M. M. **Telessimulação sobre visita domiciliar e cuidado infantil: facilidades, barreiras e percepções de estudantes de enfermagem**. Revista Latino-Americana de Enfermagem, v. 30, p. 1-11, 2022.

DRAELOS Z. D. **Special considerations in eye cosmetics**. Clinics in Dermatology, v. 19, p. 424-430, 2001.

FIGUEIREDO, L. D. F. ; SILVA, N. C. ; PRADO, M. L. **Estilos de aprendizagem de enfermeiros que atuam na atenção primária à luz de David Kolb**. Revista Brasileira de Enfermagem, v. 75, n. 6, p. 1-7, 2022.

GIOVANINI, I. R. T.; ALVES, P. E.; SIQUEIRA, L. B. O.; MARTINS, L.L. B.; SANTOS, E.P. **Desenvolvimento de maquiagem multifuncional: Batom com propriedade fotoprotetora, emoliente e hidratante**. Iniciação Científica CESUMAR, v. 21, n. 1, p. 71-82, 2019.

HARDY, A. D.; WALTON, R. I.; VAISHNAY, R.; MYERS, K. A.; POWER, M. R.; PIRRIE, D. **Chapter 5 Egyptian eye cosmetics (“Kohls”): Past and present**. Physical Techniques in the Study of Art, Archaeology and Cultural Heritage, v. 1, p. 173-203, 2006.

HOLANDA, B. F. L. A.; QUEIROZ, A. L. F. G.; TELES, E. L. S.; LIMA, G. A. V. G.; LIMA, E. N. **Desenvolvimento e avaliação de formulação labial contendo argilas cosméticas.** Revista Científica de Estética & Cosmetologia, v. 3, n. 1, p. 1-5, 2023.

JESUS, W. O.; CARVALHO, C. V. M.; SILVA, L. A. S. **Estilo de aprendizagem de Kolb: reflexões acerca do diagnóstico de um curso de licenciatura em química. Revista Brasileira de Ensino de Ciência e Tecnologia**, v. 12, n. 3, p. 385-306, 2019.

KOLB, D. A. **Experiential learning: experience as the source of learning and development**. New Jersey: Prentice-Hall, 1984.

KUMAR, S. **Exploratory analysis of global cosmetic industry: major players, technology and market trends**. Technovation, v. 25, n. 11, p. 1263–1272, 2005.

MOREIRA, F.R.; MOREIRA, J.C. **A cinética do chumbo no organismo e sua importância para a saúde**. Ciência & Saúde Coletiva, v. 9, p. 167-181, 2004.

REIS, L. G.; PATON, C.; NOGUEIRA, D. R. **Estilos de aprendizagem: uma análise dos alunos do curso de ciências contábeis pelo método Kolb**, Enfoque, v. 31, n. 1, p. 53-66, 2012.

REIS, S. M. S. P.; SIMÕES, I. M. H. **Hidratação dos lábios em doentes com patologia hemato-oncológica**. Revista Onco.news, n. 33, p. 20-22, 2016.

RIBEIRO, D.C.C. **Produção e análise sensorial de batom.** Assis, SP, 2010. Disponível : <https://cepein.femanet.com.br/BDigital/arqTccs/0611160021.pdf>. Acesso em: 2 de março de 2024.

RODRIGUES, D. J. O.; SILVA L. L. **Bastão labial composto de aciclovir para o tratamento e prevenção do HSV-1**. Cadernos das Escolas de Saúde, v. 2, n. 8, p. 158-166, 2017.

SANTOS, C. A.; BACINELLO, E.; HEIN, N. **Fatores discriminantes dos estilos de aprendizagem dos acadêmicos de ciências contábeis.** Revista de Educação, Ciência e Cultura, v. 22, n. 3, p. 129-146, 2017.

SCHMITT, C.S. ; DOMINGUES, M. J. C. S. **Estilos de aprendizagem: Um estudo comparativo**. Avaliação, v. 21, n. 2, p. 361-385, 2016.

SOARES, A. R. **Desenvolvimento de Métodos para Determinação de Chumbo e Níquel em Produtos Cosméticos e Cabelo por GF AAS**. Disponível:<chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/SFSA-92ATHZ/1/tese_aline_soares_rodrigues.pdf > Acesso em: 3 de março de 2024.

TREVELIN, A. T. C. **Estilos de aprendizagem de Kolb: estratégias para a melhoria do ensino aprendizagem**. Revista de Estilos de Aprendizagem, v. 7, n. 7, p. 1-16, 2011.

CAPÍTULO 2

METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO E ANÁLISE DO DESEMPENHO DA QUALIDADE DA ÁGUA POTÁVEL PRODUZIDA PELOS SAA

Data de aceite: 01/04/2024

Rodrigo Antonio Pinto de Melo
Engenheiro Químico pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre em Desenvolvimento de Processos Químicos e Bioquímicos (UFPE). Analista de Regulação da Agência de Regulação dos Serviços Públicos Delegados do Estado de Pernambuco (Arpe)

Cícero Henrique Macêdo Soares
Engenheiro Químico pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Doutor em processos Catalíticos e Reatores Químicos (UFPE). Analista de Regulação da Agência de Regulação dos Serviços Públicos Delegados do Estado de Pernambuco (Arpe)

João Paulo Barbosa da Costa
Engenheiro Civil pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre em Engenharia Civil (UFPE). Analista de Regulação da Agência de Regulação dos Serviços Públicos Delegados do Estado de Pernambuco (Arpe)

Emanuele Ferreira Gomes
Engenheiro Civil pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG). Mestre em Engenharia Civil e Ambiental (UFCG). Analista de Regulação da Agência de Regulação dos Serviços Públicos Delegados do Estado de Pernambuco (Arpe)

RESUMO: O presente trabalho visa mostrar a aplicação de um sistema de indicadores de desempenho para a avaliação da qualidade da água potável distribuída pelos Sistemas de Abastecimento de Água (SAA) e sua funcionalidade em relação a regulação técnica do prestador de serviço em saneamento básico. Quatro parâmetros foram escolhidos para avaliar a qualidade da água de forma sistemática para o SAA, são eles: Turbidez, Cloro Residual Livre, Coliformes Totais e Escherichia coli. Foram estabelecidos indicadores de não conformidades de amostras analisadas para os parâmetros selecionados e que visam verificar os padrões estabelecidos pelo Anexo XX da Portaria de Consolidação Nº 5 do Ministério da Saúde, e um indicador que objetiva resumir a informação de todos os outros em uma única, intitulado de Índice de Qualidade da Água Potável (IQAP). A mensuração dos indicadores foi realizada na saída do tratamento (st) e na rede de distribuição (rd), permitindo a avaliação da qualidade da água potável nas duas posições de formas independentes, proporcionando uma melhor identificação e localização dos problemas. Em termos de abrangência espacial do indicador, o cálculo foi realizado primeiro em suas menores

dimensões, depois expandido através da soma dos dados ou médias para dimensões maiores. Como resultado, foi possível averiguar as deficiências e o desempenho dos SAA, auxiliando a agência na tomada de decisão e na atuação através da regulação por exposição, propiciando intercambialidade e dinamismo das Entidades Públicas responsáveis por garantir a qualidade da água potável fornecida pelos SAA.
PALAVRAS-CHAVE: Padrões de Potabilidade. Qualidade. Indicadores de Desempenho. Regulação por Exposição.

INTRODUÇÃO

Estabelecendo um breve contexto histórico sobre a qualidade da água para consumo humano no Brasil, já conseguimos perceber a preocupação das autoridades em saúde pública sobre a qualidade da água potável através da criação do Departamento Nacional de Saúde Pública (DNSP), criado pela lei nº 3.987 na década de 1920. Em meados de 1961, o Governo Federal publicou o Decreto nº 49.974/1961 regulamentando a Lei nº 2.314/1954, adicionando novos dispositivos para vigilância sanitária e ambiental (Alves *et al.*, 2023). O marco legal de uma gestão mais eficiente e eficaz em relação a qualidade da água potável teve início com a publicação do Decreto Federal nº 79.367 de 09 de março de 1977, que atribui ao Ministério da Saúde a competência de definir padrões, produzir normativos e fiscalizar seu cumprimento, no intuito de implementar a gestão da potabilidade da água para consumo humano. Neste mesmo ano, o Ministério da Saúde Publicou a Portaria nº 56/BSB de 14 de março de 1977, o primeiro dispositivo sobre qualidade da água para consumo humano (Bastos, 2023). Com o passar dos anos a Portaria sofreu algumas revisões e em 2017, o Ministério da Saúde agrupou suas diversas normas na Portaria de Consolidação nº 5 e a Portaria 2.914/2011 é incorporada como Anexo XX. A próxima revisão aconteceu em 2020 e o resultado foi a publicação da Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021, a qual é atual norma vigente sobre a qualidade da água para consumo humano.

Analisando a Portaria GM/MS Nº 888, ficam estabelecidas as duas atividades básicas para se garantir os padrões da qualidade da água potável: o **controle** e a **vigilância** da água. A atividade de controle é de responsabilidade por quem opera o SAA, e a vigilância fica a cargo das autoridades de Saúde Pública. As Agências Reguladoras infranacionais não executam papel de vigilância da água, sua forma de agir é definida pelo marco legal do saneamento básico, no qual fica claro que um de seus papeis principais é como condicionadora de metas contratuais ou aquelas estabelecidas através dos Planos de Saneamento Básico ou Instrumentos Normativos. Perante esse aspecto peculiar de funcionalidade, a utilização de dados do processo para desenvolver técnicas de avaliação de desempenho do prestador de serviço para posteriori comparação com metas, valores de referência ou técnicas de *benchmarking* torna-se uma das principais ferramentas do analista de regulação.

Os prestadores de serviço em saneamento básico ao operar os Sistemas de Abastecimento de Água têm por obrigação fornecer água que esteja enquadrada nos padrões de potabilidade estabelecido pela legislação vigente. Avaliar o desempenho dos SAA na produção da água nos padrões de potabilidade, considerando todas as anomalias possíveis, envolve uma infinidade de parâmetros que torna esta tarefa bastante complicada devido a quantidade de medições e métodos que devem ser empregados para medir todos os principais parâmetros envolvidos em sua avaliação. Ao se trabalhar com indicadores de desempenho, surge a necessidade de se escolher o menor número de parâmetros possíveis, mas sem perder a visão sistêmica em sua avaliação. Ou seja, os parâmetros escolhidos devem permitir inferir se o tratamento da água foi bem desempenhado e que os residuais de proteção contra contaminação estejam ativos em toda rede de distribuição.

A metodologia do uso de sistemas de indicadores de desempenho permitirá ao profissional de regulação abordar se as metas estabelecidas para qualidade da água foram cumpridas, além de, consentir a avaliação de desempenho dos SAA, propiciando um excelente acessório na tomada de decisão, principalmente em ações fiscalizatórias e na construção de ferramentas para uso da regulação por exposição, permitindo uma melhor interação entre os Órgãos Públicos responsáveis por fiscalizar o saneamento básico (Regulasan, 2017).

OBJETIVOS

- Avaliar a qualidade da água potável distribuída pelos SAA através de um sistema de indicadores de desempenho.
- Propiciar um meio de auxílio a tomada de decisão.
- Fazer uso da regulação por exposição, propiciando uma melhor interação entre as partes interessadas (*stakeholders*), responsáveis ou não pela gestão do saneamento básico.

MATERIAL E MÉTODOS

Em relação a metodologia, na escolha dos indicadores para avaliação de desempenho, optou-se pela escolha de parâmetros essenciais para avaliação da tratabilidade da água de forma sistêmica. No que concerne a **qualidade bacteriológica**, de acordo com (OMS, 2005) citado por (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006), Coliformes Totais constitui um indicador satisfatório para avaliação da eficiência do tratamento por apresentar uma taxa de decaimento similar ou superior à dos coliformes termotolerantes e da Escherichia coli; mas, para contaminação bacteriológica, o indicador mais preciso é Escherichia coli. Quanto à **qualidade virológica**, o parâmetro bacteriológico Coliforme deve ser verificado conjuntamente com o parâmetro Cloro Residual na saída do tanque de contato junto com

o próprio tempo de contato. No que diz respeito a **qualidade parasitológica**, observa-se que as formas encapsuladas dos protozoários possuem elevada resistência aos teores de cloros usados no processo de desinfeção da água, notadamente, os cistos de Giárdia e os oocistos de Cryptosporidium, por apresentarem elevada resistência a cloração, sua remoção em processo de tratamento é estritamente ligada à filtração, deste modo, os coliformes praticamente perdem seu papel de indicador, devendo ser substituídos por um indicador de remoção de partículas em suspensão por meio da filtração, como a turbidez (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Do exposto, Coliformes Totais é um parâmetro chave porque mede a eficiência do tratamento, mas que não deve ser analisado sozinho, pelo fato de existir fatores que os Coliformes examinados isoladamente não consegue agregar a informação obtida através de sua avaliação.

Considerando os parâmetros Turbidez, Cloro Residual Livre, Coliformes Totais e Escherichia coli, como essenciais na avaliação do desempenho da tratabilidade da água, a Arpe optou por trabalhar com cinco indicadores para analisar o desempenho da tratabilidade da água distribuída pelos SAA operados pelo prestador de serviço. Quatro deles são baseados no indicador de incidência de análises realizadas fora do padrão, que é usado para aferir a quantidade de amostras realizadas que não estão de acordo com os padrões exigidos pela legislação vigente. Sua avaliação se baseia na divisão do número de análises realizadas que estão fora do padrão pelo número de amostras realizadas. A conjectura desses indicadores deve ser realizada em conjunto para uma compreensão mais satisfatória do desempenho do tratamento da água em relação a qualidade bacteriológica, virológica e parasitológica.

O quinto indicador ou índice tem o objetivo de resumir o resultado dos quatros indicadores de análises fora dos padrões em um único número. Conforme relata (Libânio, 2010), a divulgação da interpretação de dados e parâmetros de qualidade de água de forma inteligível ao público, ainda que não seja exclusividade desta área de conhecimento em questão, tem sido motivo de esforços de diversos pesquisadores. É importante, muitas vezes, em termos de análise, reproduzir em um único valor o significado de um conjunto de dados de distintas naturezas. A Figura 1 relata o esquema do sistema de indicadores.
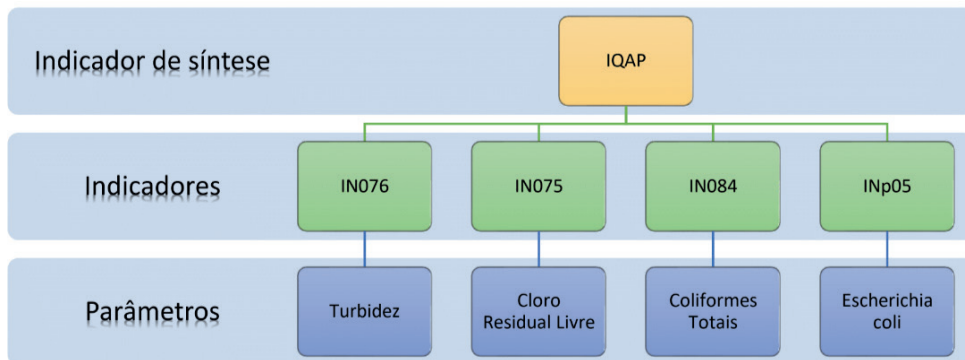
Figura 1 – Sistema de indicadores para avaliação da tratabilidade da água

O ponderamento do indicador IQAP é realizado através de uma avaliação quantitativa do risco que as não conformidades dos indicadores IN076, IN075, IN084 e INp05 acarretam ao SAA. Para caracterizar o risco de cada parâmetro utilizamos pontuações para os seguintes aspectos: Severidade (S), Ocorrência (O) e Perigo (P). Severidade significa a magnitude que tem o perigo caso ele ocorra (quantidade de danos que o perigo ocorrido oferece), ocorrência, a frequência com que o perigo está ocorrendo no processo, ou seja, ela é o próprio indicador de inferência de análise fora dos padrões, e perigo, um efeito adverso ocasionado por determinada circunstância. Uma metodologia mais completa pode ser vista em (Ogata, 2011). Dois aspectos devem ser destacados para o cálculo do peso w:

1. **O peso calculado é dinâmico:** a severidade e o perigo são aspectos constante para determinado parâmetro, mas a ocorrência varia conforme o próprio indicador de não conformidade, ou seja, quanto mais não conformidade existir para o parâmetro, maior será o peso calculado.
2. **O peso pode ser redistribuído:** Se qualquer parâmetro possuir risco zero, ele não entrará no cálculo do IQAP, e o peso é redistribuindo entre os parâmetros que possuem risco diferente de zero.

A Tabela 1, a seguir, ilustra as fórmulas usadas para os cálculos dos indicadores junto com a nomenclatura utilizada.

Indicador	Descrição	Origem	Fórmula de cálculo
IN075	*Incidência das análises de cloro residual fora do padrão*	SNIS	$$\text{IN075} = \left(\frac{QD007}{QD006}\right) \times 100$$ QD007 - Quantidade de amostras para cloro residual fora do padrão (analisadas) QD006 - Quantidade de amostras para cloro residual (analisadas)
IN076	*Incidência das análises de turbidez fora do padrão*	SNIS	$$\text{IN076} = \left(\frac{QD009}{QD008}\right) \times 100$$ QD009 - Quantidade de amostras para turbidez fora do padrão (analisadas) QD008 - Quantidade de amostras para turbidez (analisadas)
IN084	*Incidência das análises de coliformes totais fora do padrão*	SNIS	$$\text{IN084} = \left(\frac{QD027}{QD026}\right) \times 100$$ QD027 - Quantidade de amostras para coliformes totais fora do padrão (analisadas) QD026 - Quantidade de amostras para coliformes totais (analisadas)
IN_P05	*Incidência das análises de E.coli fora do padrão*	Arpe	$$\text{IN}_\text{P}05 = \left(\frac{QD_P009}{QD_P010}\right) \times 100$$ QD_P009 - Quantidade de amostras para *E.coli* fora do padrão (analisadas) QD_P010 - Quantidade de amostras para *E.coli* (analisadas)
IQAP	*Índice de qualidade da água potável*	Arpe	$$IQA_p = \sum_{i=1}^{n}[(1 - q_i) * w_i]$$ $$\sum_{i=1}^{n} w_i = 1$$ *R_i = Severidade (S) x Occorrência (0) x Perigo (D)* $$R_{total} = \sum_{i=1}^{n} R_i \;.\!: w_i = \frac{R_i}{R_{total}}$$ onde.: n - número de parâmewtros de qualidade da água avaliado localmente no SAA i - parâmetro avaliado q_i - Incidência das análises fora do padrão do parâmetro i w_i - Peso atribuído ao parâmetro i R_i – Risco que o parâmetro i oferece

Tabela 1 – Esquema de cálculo dos indicadores

Fonte: Coordenadoria de Saneamento e Resíduo Sólido-Arpe, 2023

As informações referentes as análises de qualidade da água oriundos do processo de monitoramento realizado pelo Prestador de Serviço em Saneamento Básico são recebidos pela Agência mensalmente em planilhas do Microsoft Excel®. Um script, em Visual Basic, de leitura de dados foi desenvolvido para o tratamento da informação e posterior cálculo dos indicadores. Para a visualização, três painéis (*dashboard*) foram construídos conforme a abrangência espacial na qual se quer analisar o desempenho.

O cálculo dos indicadores são reallizados para as análises do controle da água realizado conforme os pontos estabelecidos pelo normativo vigente, assim, os indicadores são gerados para dois pontos específico do sistema separadamente, a saída do tratamento e a rede de distribuição, permitindo uma melhor averiguação da localição dos problemas.

No que diz respeito a abrangência dos indicadores, a Figura 2 ilustra a unidade na qual recebemos os dados e a expansão dos mesmo para o cálculo em unidades territorias maiores, visando uma avaliação mais macro.

Figura 2 – cálculo dos indicadores por abrangência espacial

Fonte: Coordenadoria de Saneamento e Resíduo Sólido – Arpe, 2023

RESULTADOS/DISCUSSÃO

Para avaliar, conforme a metodologia apresentada, a prestação do serviço em saneamento básico em termos de desempenho da tratabilidade da água, utilizou-se de alguns gráficos de desempenho do índice IQAP e seus respectivos indicadores de composição, calculados na faixa anual de 2018 a 2022. A Figura 3, relata o desempenho classificado como regular do IQAP para todos os anos de averiguação, e uma tendência de declive negativo com o passar dos anos.

Índice de Qualidade da Água Potável na saída do tratamento - IQAP (%)

78.73 77.73 76.02 74.38 72.37

#N/A #N/A #N/A #N/A #N/A

2018 2019 2020 2021 2022

0 <= IQAP <=50 (muito ruim) 50 < IQAP <=70 (ruim) 70 < IQAP <=80 (regular)

80 < IQAP <=90 (bom) 90 < IQAP <=100 (excelente)
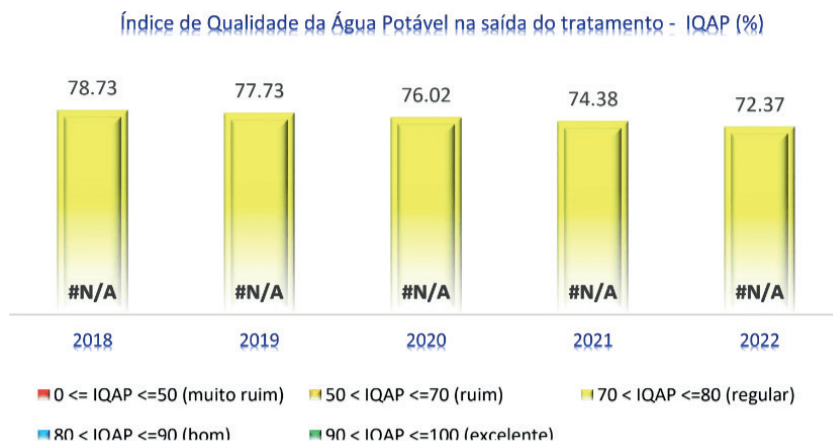
Figura 3 - Gráfico da evolução anual do IQAP (st)

Fonte: Coordenadoria de Saneamento e Resíduo Sólido-Arpe, 2023
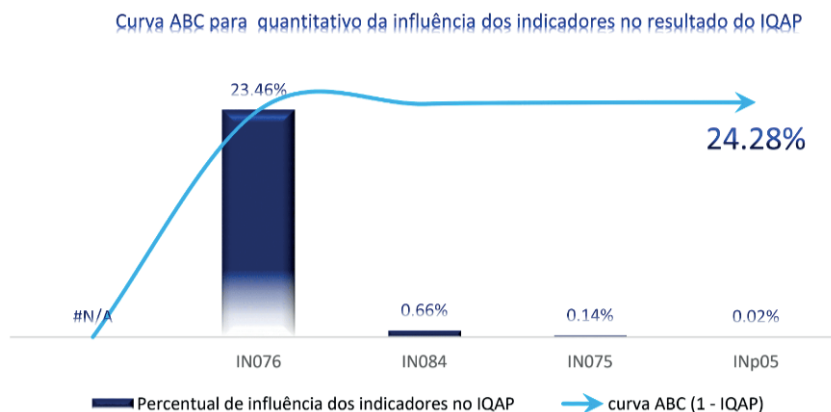
Figura 4 - Gráfico da Curva ABC (1 - IQAO (st))

Fonte: Coordenadoria de Saneamento e Resíduo Sólido – Arpe, 2023

Ao observar a Figura 4, verifica-se que IQAP médio dos anos em análise obteve um déficit de 24,28% em relação aos 100% de excelência máxima e que do conjunto de indicadores que compõe o IQAP, o IN076 foi responsável por cerca de 23,46% do déficit, restando 0,82% que é composto pelo déficit dos indicadores IN084, IN075 e IN_p05. Então, a concessionária obteve excelente desempenho em termos dos parâmetros bacteriológicos e dosagem do cloro residual livre, evidenciando uma ótima eficiência na eliminação de vírus e bactérias, visto que o déficit de IN084 médio foi de 0,66%. Em relação ao IN076, o déficit mostra uma dificuldade em se obter o padrão de 0,5 NTU em 95% das amostras para algumas regiões, evidenciando que poderá estar exposta aos problemas relacionados a essa não conformidade. As Figuras 5 e 6 mostram os resultados dos indicadores para a rede de distribuição.
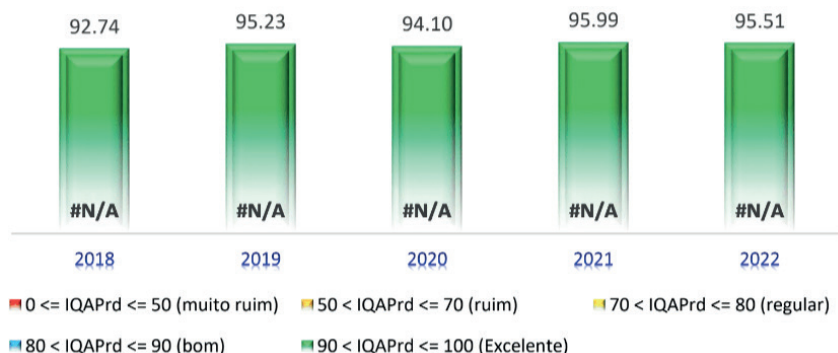
Figura 5 - Gráfico da evolução do IQAP (rd)

Fonte: Coordenadoria de Saneamento e Resíduo Sólido – Arpe, 2023
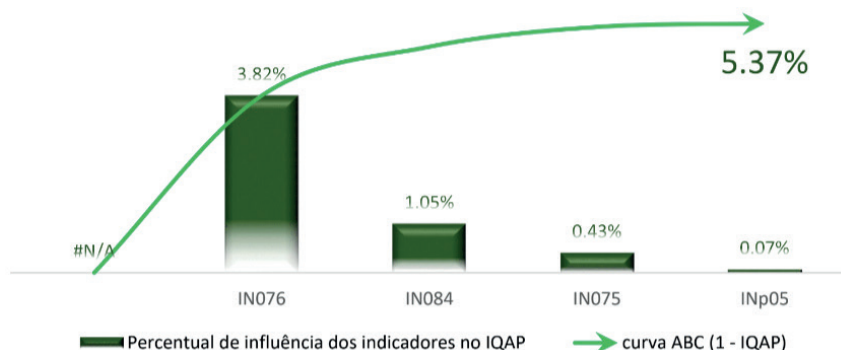
Figura 6 - Gráfico da Curva ABC (1 - IQAP(rd))

Fonte: Coordenadoria de Saneamento e Resíduo Sólido – Arpe, 2023

Analisando a Figura 5, é visto que para os 5 anos analisado a prestação de serviço em termos de tratabilidade da água na rede de distribuição obteve classificação de excelente, apresentando IQAP de 92,74% para 2018 e nos anos restantes uma média em cerca de 95% de excelência. Conforme mostra a Figura 6, o déficit médio no IQAP para rede de distribuição foi de 5,37%. Novamente o IN076 obteve o maior percentual do déficit, mas dessa vez respondendo apenas por 3,82%, e os 1,55% restante, distribuído entre os outros indicadores. A concessionária alcançou um IQAP em nível de excelência na rede de distribuição, diferente da saída do tratamento, que apresentou um problema contínuo em relação ao indicador IN076.

Avaliando numa abrangência espacial menor, a Figura 7 relata o cálculo do IQAP para as unidades de negócio do prestador, é possível verificar que seis gerências obtiveram IQA classificado como ruim.
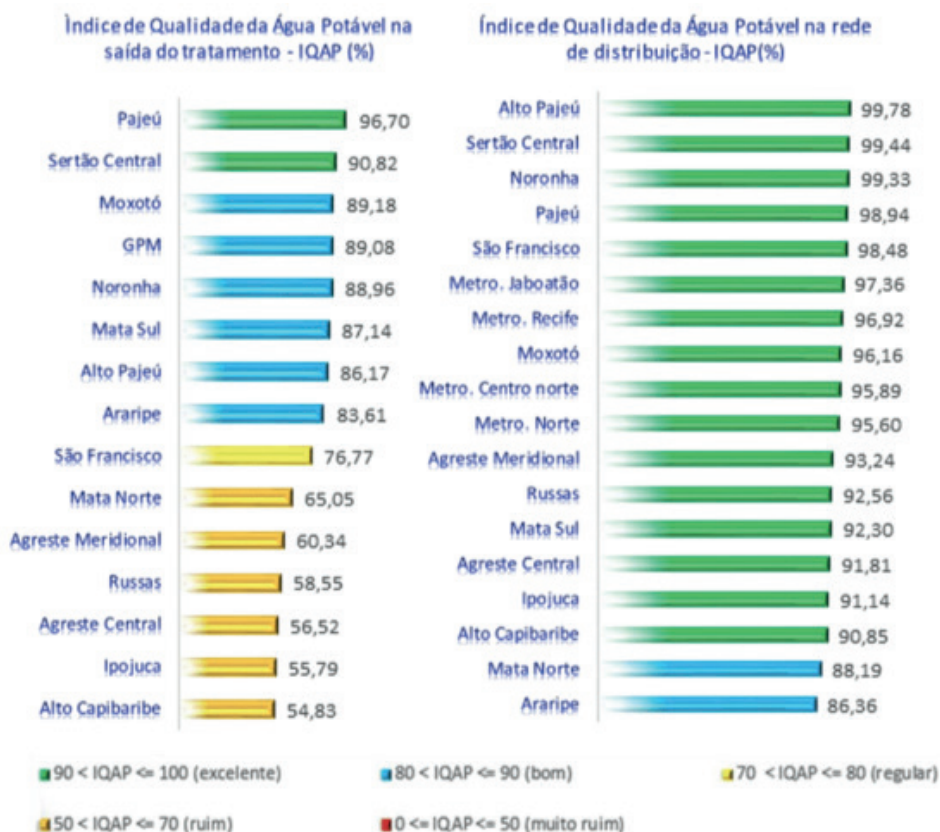
Figura 7 - IQA médio (2018 - 2022) calculado para abrangência das unidades de negócio

Fonte: Coordenadoria de Saneamento e Resíduo Sólido – Arpe, 2023

A explicação para um desempenho abaixo do regular é que, para as gerências do Alto do Capibaribe, Ipojuca, Agreste Central, Russas e Agreste Meridional, que pertence a região do agreste nordestino, possuem muitos dos mananciais usados para o abastecimento de água em colapso ou pré-colapso devido a problemas relacionado a escassez hídrica, o que muitas vezes eleva bastante a turbidez da água, tornando-se difícil a clarificação, principalmente se o tratamento não for convencional.

Levando em consideração o resultado da avaliação de desempenho através dos sistemas de indicadores para tratabilidade água, a Arpe optou pela fiscalização direta para alguns municípios da Mata Norte no ano de 2023, uma vez que eles apresentaram IQA ruim e não tinham sido objeto de uma fiscalização recente.

Fazendo um panorama geral em relação ao indicador IN076 no estado de Pernambuco, observa-se que as Estações de Tratamento de Água com tipo de tratamento não convencional possuem dificuldade em atingir 0,5 uT em 95% das amostras para a maioria dos SAA, e que, mesmo as ETAs que possuem tratamento completo, em períodos chuvosos, muitas vezes não conseguem atingir os padrões exigidos pela Portaria GM/MS Nº 888 para o indicador IN076.

CONCLUSÃO

Conforme verificado através dos gráficos, o percentual médio (2018-2022) de não conformidades para os indicadores IN084, IN075 e IN_p05 que impactaram o IQAP foram respectivamente de 0,66%, 0,14% e 0,02% para saída do tratamento e 1,05%, 0,43% e 0,07% na rede de distribuição, evidenciando problemas pontuais em relação ao tratamento da água, mas pode-se inferir que, de maneira geral, os SAA apresentaram um bom desempenho em relação a eliminação de vírus e bactérias na água distribuída a população. Um problema sistêmico foi verificado para o indicador IN076, que pode ser usado como indicador de eficiência na remoção parasitológica para saída do tratamento. O IN076 foi responsável por uma deficiência média de 23,46% para o IQAP na saída do tratamento, totalizando praticamente todo o déficit obtido.

A utilização de um sistema de indicadores de desempenho para avaliar a qualidade de água potável produzida por um SAA mostrou-se ser uma ferramenta muito útil para o tipo de trabalho exercido pelo regulador em saneamento básico. A capacidade do sistema de indicadores de permitir avaliar o desempenho em termos de tratabilidade da água fornece vários instrumentos de trabalho e análise, o que garante ao analista um ganho na tomada de decisão, como também, melhores procedimentos e atuações fiscalizatórias, visto que as deficiências podem ser apontadas, diminuindo a assimetria da informação no momento da fiscalização, permitindo seleção e foco diante do universo de SAA em piores condições de produção e manutenção da qualidade da água potável. Além disso, a gestão do setor de saneamento é bastante complexa, exigindo muitas vezes a ação em conjunto

de vários *stakeholders* do setor público, que muitas vezes não estão alinhados com seus trabalhos internos e muito menos com outras instituições. A elaboração de relatórios de desempenho, sua divulgação e disponibilidade são elementos interessantes para estreitar as lacunas existentes entre os órgãos e proporcionar uma gestão mais eficiente e de maneira globalizada.

REFERÊNCIAS

Libânio, M. (2010). **Fundamentos de qualidade e tratabilidade de água (3ª ed.)**. Campinas, SP.

Ogata, I. S. Avaliação de risco da Qualidade da Água Potável do Sistema de Abastecimento da Cidade de Campina Grande (PB). Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade estadual da Paraíba. Campina Grande (2011)

Regulasan. **Curso de avaliação da qualidade, desempenho dos serviços, indicadores e sistemas de informação**. Projeto REGULASAN. Curso III (produto VIII.3). Campinas (2017)

Ministério da Saúde. (2006). **Vigilância e Controle da Qualidade da Água para Consumo Humano**. Brasília, DF. Acesso em 08 de 09 de 2023, disponível em https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_controle_qualidade_agua.pdf

Alves, A. G., Formaggia, D. M., Fernandes, M. L., Machado, P. A., Souza, R. M. **Padrão de potabilidade: Contexto histórico das portarias de potabilidade, dúvidas, indagações, considerações e preocupações da nova Portaria GM/MS n° 888/21.** Acesso em 06 de julho de 2023, disponível em https://tratamentodeagua.com.br/artigo/padrao-potabilidade-nova-portaria-gm-ms-888-21/

Bastos, R. K. **A norma brasileira de qualidade da água para consumo humano em revisão – um convite à reflexão sob a ótica dos direitos**. Acesso em 05 de julho de 2023, disponível em https://ondasbrasil.org/wp-content/uploads/2020/05/A-norma-brasileira-de-qualidade-da %C3%A1gua-para-consumo-humano-em-revis%C3%A3o-%E2%80%93-um-convite-%C3%A0 reflex%C3%A3o-sob-a-%C3%B3tica-dos-direitos-.pdf

CAPÍTULO 3

PERFIL CINÉTICO DE GALACTOOLIGOSSACARÍDEOS PRODUZIDOS POR β-GALACTOSIDASE DE *KLUYVEROMYCES LACTIS*

Data de aceite: 01/04/2024

Adriana A. B. Tomal
Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG); Departamento de Ciências Naturais e da Terra. Divinópolis – MG. Brasil
https://orcid.org/0000-0002-3764-6820

Alessandra Bosso
Universidade Estadual de Londrina; Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias. Londrina -PR. Brasil
https://orcid.org/0000-000-1591-3737

Raúl Jorge Hernan Castro Gómez
Universidade Estadual de Londrina; Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias. Londrina -PR. Brasil
https://orcid.org/0000-0001-5773-1654

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo cinético da produção de galactooligossacarídeos (GOS) a partir de soro de leite por β-galactosidase de *Kluyveromyces lactis*. Os experimentos foram conduzidos em condições otimizadas das enzimas para a produção de GOS (GOS_t) e rendimento de GOS (Y) em soro de leite e comparados com lactose pura nas mesmas condições. Os carboidratos foram quantificados por cromatografia líquida alta eficiência de troca iônica acoplado com detector de pulso amperométrico (HPEAC-PAD). A utilização da enzima *K. lactis* revelou produzir dez vezes mais GOS_t no soro de leite do que na lactose pura, sendo 34.65 g/L e 3.63 g/L, respectivamente após 120 minutos de reação. Quanto ao perfil cinético, foi observado que a enzima de *K. lactis* converteu 90.01% da lactose, sendo que aos 240 minutos de reação, a lactose foi completamente convertida, e quando comparado o perfil cinético utilizando lactose pura nas mesmas condições reacionais, houve a converso de apenas 20% da lactose, produzindo 3.87 g/L de GOS_t. O produto obtido da produção de GOS a partir do soro de leite com enzima β-galactosidase de *Kluyveromyces lactis* mostrou ser uma alternativa de ingrediente em alimentos funcionais com quantidade significativa de GOS e baixo teor de lactose.
PALAVRAS-CHAVE: Alimento funcional, hidrólise da lactose, soro de leite, transgalactosilação

KINETIC PROFILE OF GALACTOOLIGOSACHARIDES PRODUCED BY β-GALAACTOSIDASE FROM *KLUYVEROMYCES LACTIS*

ABSTRACT: The objective of this work was to carry out a kinetic study of the production of galactooligosaccharides (GOS) from whey by β-galactosidase from Kluyveromyces lactis. The experiments were conducted under optimized enzyme conditions for GOS production (GOSt) and GOS yield (Y) in whey and compared with pure lactose under the same conditions. Carbohydrates carbohydrate were quantified by by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAE-PAD). The use of the K. lactis enzyme revealed to produce ten times more GOSt in whey than in pure lactose, being 34.65 g/L and 3.63 g/L, respectively after 120 minutes of reaction. As for the kinetic profile, it was observed that the K. lactis enzyme converted 90.01% of the lactose, and after 240 minutes of reaction, the lactose was completely converted, and when comparing the kinetic profile using pure lactose under the same reaction conditions, there was a conversion of only 20% of the lactose, producing 3.87 g/L of GOSt. The product obtained from the production of GOS from whey with the enzyme β-galactosidase from Kluyveromyces lactis proved to be an alternative ingredient in functional foods with a significant amount of GOS and low lactose content.
KEYWORDS: Functional food, lactose hydrolysis, whey, transgalactosylation

INTRODUÇÃO

Os oligossacarídeos são açúcares encontrados como componentes naturais em alguns alimentos e também podem ser sintetizados enzimaticamente (Jovanovic-Malinovska, Kuzmanova e Winkelhausen, 2015; Dwivedi et al., 2014; García-Cayuela, Díez-Municio e Herrero, 2014). Muitos destes oligossacarídeos são classificados como prebióticos, que são componentes alimentares não digeríveis que atuam seletivamente na proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon, conferindo benefícios à saúde (Gibson et al., 2017; White e Hekmat, 2018). Este conceito abrange todas as bactérias promotoras da saúde que podem ser impactadas pelos prebióticos não apenas no intestino grosso, mas também em todo o trato gastrointestinal, que compreende desde a cavidade oral até o reto, o trato urogenital e a pele (Scott et al., 2020).

Entre os oligossacarídeos prebióticos, destacam-se os galactooligossacarídeos (GOS), Os GOS são compostos por moléculas de galactose e uma molécula de glicose ligadas através de ligações glicosídicas, sendo formados por tri- a hexassacarídeos com 2-5 unidades de galactose (Scott et al., 2020). Os GOS são produzidos a partir de soluções com altas concentrações de lactose por atividade de transgalactosilação, pela β-galactosidase de diversas fontes (Fai et al., 2014; Intanon et al., 2014; Michelon et al., 2014; Park e Oh, 2010).

A conversão da lactose em GOS por ação da enzima β-galactosidase é uma reação cineticamente controlada e responde a um modelo de competição entre a reação de transgalactosilação e hidrólise. No primeiro momento ocorre a formação de um complexo enzima-galactosil e a liberação da glicose, em seguida o complexo enzima-galactosil é

transferido para um aceptor que contenha um grupo hidroxila. Quando a transferência é feita para a lactose ocorre a transgalactosilação e se a transferência é feita para a água, a reação é de hidrólise (Akiyama et al., 2001).

Para uma síntese efetiva de galactooligossacarídeos, além das condições ambientais como temperatura, pH e concentração do substrato, há estudos de β-galactosidases termicamente estáveis e com alta capacidade de transgalactosilação (Mahoney, 1998). A fonte preferida de β-galactosidase para aplicações biotecnológicas é a microbiana, incluindo fungos filamentosos (Fai et al., 2014; Santos, Simiqueli e Pastore, 2009), leveduras (Petrova e Kujumdzieva, 2010) e bactérias (Gosling et al., 2009); as condições ótimas do processo variam de acordo com o micro-organismo em que a enzima foi extraída (Frenzel et al., 2015; Rodriguez-Colinas et al., 2014).

Estudos têm demonstrado que β-galactosidases de fontes distintas utilizadas na produção de GOS, diferem quanto a seletividade à água, à moléculas de açúcar, ao substrato utilizado como fonte de lactose e que mesmo em concentrações iguais de lactose inicial, resultam em rendimentos de GOS, estruturas e tipos de ligações glicosídicas diferentes (Gosling et al., 2010; Otieno 2010), formando GOS com propriedades prebióticas diferentes (Depeint et al., 2008).

Os trissacarídeos são os GOS formados em maior proporção na transgalactosilação (Cardelle-Cobas et al., 2008; Martinez-Villaluenga et al., 2008), mas diferem quanto à ligação glicosídica. β-galactosidases de *A. oryzae* e *K. lactis* produzem preferencialmente GOS com ligações glicosídicas β1-6, formando 6'-galactosil-lactose como produto principal (Gosling et al., 2010), enquanto β-galactosidase de *B. circulans* produz predominantemente GOS com ligações glicosídicas β1-4 formando principalmente 4'-galactosil-lactose (Rodriguez-Colinas et al., 2012). A β-galactosidase de *K. lactis* difere de *A. oryzae* quanto a composição geral de GOS, formando oligossacarídeos de maior peso molecular e dissacarídeos diferentes da lactose, além do trissacarídeo 6'-galactosil-lactose (Martinez-Villaluenga et al., 2008; Urrutia et al., 2013).

Neste trabalho, foi realizado um estudo cinético da produção de GOS a partir do soro de leite utilizando enzima β-galactosidase de *Kluyveromyces lactis* e Aspergillus oryzae, com o objetivo de desenvolver uma estratégia para a obtenção de produtos lácteos com uma quantidade significativa de GOS e, ao mesmo tempo, com baixo teor de lactose.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais

O soro de leite em pó integral foi utilizado como matéria prima e adquirido da empresa Confepar® (Londrina, Brasil) e armazenado à temperatura de 4 ºC até seu uso.

A enzima utilizada foi β-galactosidase comercial de *Kluyveromyces lactis* maxilact® LX 5000 (DSM FOOD SPECIALITIES), armazenada a 4 ºC até a utilização.

Os reagentes utilizados foram de grau analítico. Os carboidratos utilizados como padrões foram lactose (β-D-galactopiranosil-(1→4)-D-glicose) Sigma, glicose (D(+)-Glicose) Sigma, galactose (D(+)-Galactose) Sigma e 6'-galactosil-lactose (GOS β-1,6), Carbosynth (Berkshire, UK), de grau cromatográfico.

Métodos

Formação de galactooligossacarídeos a partir do soro de leite

As reações de síntese enzimática de GOS com a enzima β-galactosidase de *K. lactis* foram realizadas em meio aquoso. As condições de incubação foram definidas de acordo com os resultados anteriores não apresentados. O sistema reacional utilizando β-galactosidase de *K. lactis* (15 U/mL) foi composto por 400 g/L de soro de leite integral reidratado em tampão fosfato de sódio 0,1M a pH 6.0.

Os frascos foram dispostos em incubadora rotatória orbital (Tecnal, modelo TE- 421) sob agitação de 180 rpm, temperatura de 40 ºC para *K. lactis*. O volume total utilizado foi de 100 mL, acondicionados em erlenmeyers de 250 mL de capacidade. Alíquotas de 5 mL foram coletadas a cada meia hora até duas horas de reação e após as alíquotas foram retiradas a cada uma hora até totalizar 6 horas de reação, em seguida foram inativadas em banho-maria a uma temperatura de 100°C por 5 min e posteriormente congeladas até a quantificação dos açúcares por HPAEC-PAD.

A síntese de GOS foi avaliada pelos parâmetros: produção de GOS total (GOS_t), rendimento de GOS_t (Y), conversão de lactose, glicose e galactose livres.

A produção de GOS total (GOS_t), rendimento da produção de GOS_t (Y), conversão de lactose e produtividade foram calculados de acordo com a Tomal (2015)

Análise estatística

Foi realizado teste-t de Student nas comparações entre os parâmetros da produção de galactooligossacarídeos (GOS) sintetizados a partir dos substratos soro de leite ou lactose pura para a enzima originada de *K. lactis*, considerando $p<0,05$ para significância estatística.

Os dados obtidos foram tratados no software Statística 7.0 (StatSoft®).

Quantificação dos carboidratos (HPAEC-PAD)

As amostras obtidas foram filtradas em membrana hidrofílica PVDF de 0,22 μm de tamanho de poro (Millipore, Billerica, MA, EUA) e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência de troca iônica (HPAEC-PAD, modelo 5000 ICS, Dionex Canada Ltd., Oakville, Canada). Alíquotas (10 μl) do filtrado foram automaticamente injetadas no sistema cromatográfico e os carboidratos foram separados pela coluna analítica CarboPac® PA1 (250 mm x 4 mm; 10 μm de tamanho de partícula; Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, EUA) precedido por uma pré-coluna CarboPac ® PA1 (50 mm x 4 mm). As corridas cromatográficas foram realizadas a uma vazão de 1 mL/min a 25 °C. A quantificação dos açúcares foi feita por meio de calibrações externas a partir de soluções-padrão de galactose (1 a 40 μg/mL), glicose (0,5 a 50 μg/mL), lactose (0,5 a 150 μg/mL) e 6'-galactosil-lactose (3 a 55 μg/mL). Os padrões também foram utilizados para identificar os carboidratos com base nos seus tempos de retenção. A aquisição e tratamento dos dados foram realizados utilizando o software Chromeleon versão 6.8 (Dionex Corporation).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparação da produção de GOS a partir de soro de leite ou lactose

Foi realizado um estudo comparativo afim de investigar a influência da composição dos substratos soro de leite e lactose PA na produção de GOS.

Foi utilizado 400g/L de soro de leite contendo 68,28% de lactose (Tabela 2) e a mesma proporção deste carboidrato foi utilizada na produção de GOS por lactose pura. A reação ocorreu por 120 minutos em pH 6.0 e temperatura de 40 ºC. As condições de síntese de GOS_t utilizadas neste trabalho foram previamente estudadas pelos autores.

Os parâmetros avaliados na comparação da utilização de soro de leite e lactose pura foram, produção de GOS_t, conversão da lactose, rendimento (Y) e produtividade da síntese de galactooligossacarídeos (Tabela. 2).

Substrato	GOS_t (g/L)	Conversão de lactose (%)	Y (%)	Produtividade (g/L/h)
Soro de Leite	34.65 ± 1.75^a	90.10 ± 1.24^a	14.04 ± 0.62^a	0.288 ± 0.047^a
Lactose Pura	3.63 ± 0.11^b	19.49 ± 0.99^b	1.77 ± 0.05^b	0.030 ± 0.002^b

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística para teste-t ($p<0.05$).

Tabela 2. Comparação da utilização de soro de leite e lactose pura sobre a produção de GOS_t, conversão de lactose, rendimento (Y) e produtividade da síntese de galactooligossacarídeos totais de β-galactosidases de *Aspergillus oryzae* ou *Kluyveromyces lactis*.

Foi possível observar uma diferença estatística para o teste-t ($p>0.05$), ressaltando que a produção de GOS_t foi inferior quando se utilizou lactose pura como substrato. Essa redução é observada também em todos os outros parâmetros estudados. A dependência da enzima β-galactosidase de *K. lactis* frente os minerais presentes no soro de leite é evidenciada pelos resultados obtidos.

Os resultados deste trabalho corroboram com os estudos de Fischer e Kleinschmidt (2015) que analisaram a influência dos íons Na^+, K^+, NH_4^+, Mg^{2+} e Ca^{2+} na atividade da enzima β-galactosidase de *A. oryzae* e os resultados indicaram que os íons testados não afetaram a atividade da enzima, mostrando que a mesma não possui dependência dos íons presentes no meio, o que torna o soro de leite uma alternativa viável para produção de GOS_t. Já para a enzima *K. lactis* os autores relataram que a atividade da enzima β-galactosidase é fortemente ativada na presença de Na^+, NH_4^+ e K^+.

Perfil cinético da produção de GOS_t

As mesmas condições reacionais utilizadas no estudo de comparação entre os substratos foram utilizadas no estudo da cinética.

A Figura 1 mostra a cinética da síntese de GOS_t para s enzima *K. lactis* tendo o soro de leite como substrato.

Observou-se que a máxima produção de GOS_t foi após 120 minutos de reação, levando a uma redução na concentração de GOS imediatamente após este tempo. Este fato se dá pela hidrólise do próprio GOS formado devido a especificidade da enzima e a diminuição da lactose no meio reacional. A concentração de lactose foi completamente hidrolisada após 240 minutos de reação.
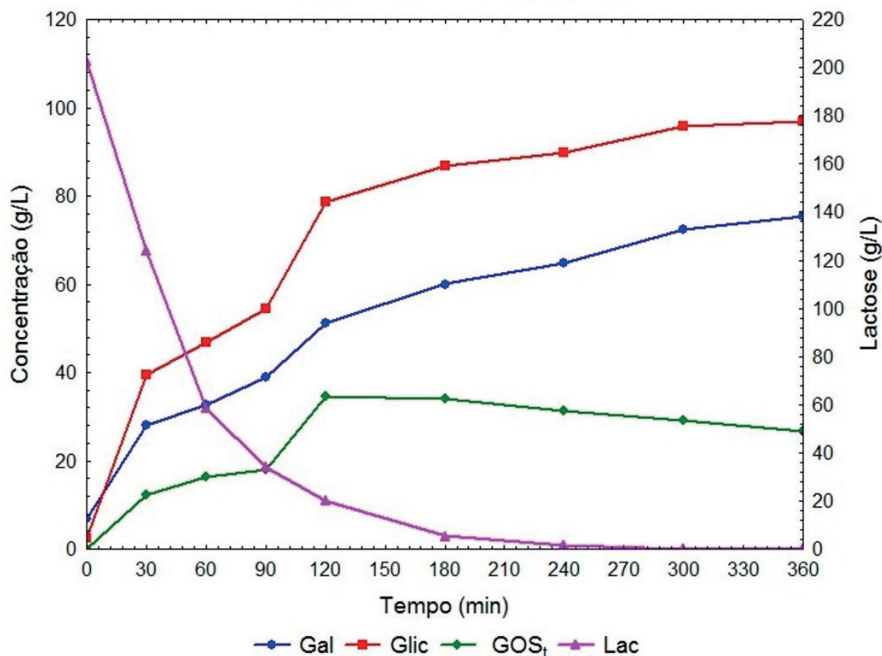
Figura 1. Concentração de glicose, galactose, lactose e GOS_t em função do tempo de reação para β-galactosidase de *Kluyveromyces lactis*.

Hsu, Lee e Chou (2007) relataram que o acúmulo de glicose e galactose no meio reacional atuam como inibidores de diferentes fontes de β-galactosidases. Cruz et al. (1999) apresentaram que a síntese de oligossacarídeos por β-galactosidase de *Penicillium simplicissimum* foi fortemente inibida quando os monossacarídeos atingiram concentrações próximas a de GOS (cerca de 180 g/L). Mateo et al. (2007) relataram que as β-galactosidases de *Kluyveromyces* spp são inibidas por galactose (inibição competitiva) e glicose (inibição não competitiva). Os monossacarídeos glicose e principalmente galactose são reconhecidos como inibidores da reação de transgalactosilação. A inibição da galactose é resultado de uma competição com a lactose pelo sítio ativo da β-galactosidase, uma vez que esta enzima pode formar o complexo enzima-galactosil. O mecanismo de inibição pela glicose é mais complexo, e dependendo da fonte da enzima pode ser competitivo ou não competitivo (Gosling et al., 2010; Park e Oh, 2010).

A Figura 2 mostra os cromatogramas por HPAEC-PAD da reação do soro de leite com a enzima β-galactosidase de *Kluyveromyces lactis* no ponto de máxima concentração de GOS. Os picos 1, 2, 5 e 6 correspondem a galactose, glicose, lactose e 6'-galactosil-lactose (GOS β-1,6), respectivamente.
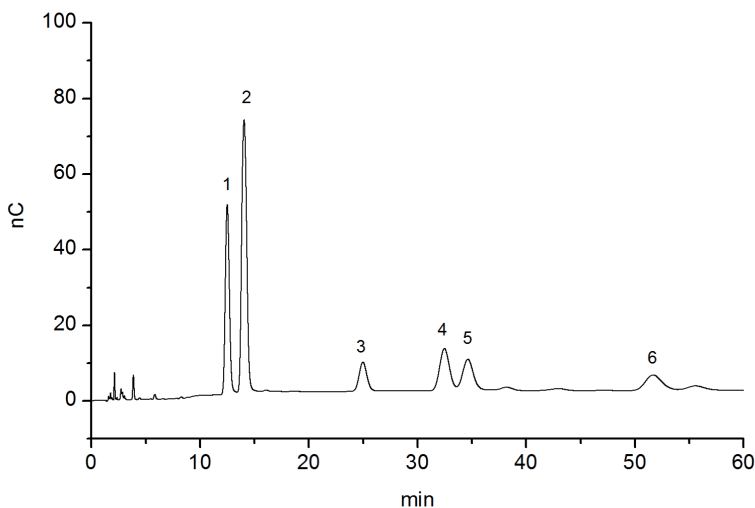
Figura 2. Cromatogramas por HPAEC-PAD da reação do soro de leite com a enzima β-galactosidase de *Kluyveromyces lactis* (15U/mL), 400 g/L de soro de leite, 45 ºC e pH 6,0. Os picos correspondem a: (1) Galactose, (2) Glicose, (5) lactose e (6) 6'-galactosil-lactose.

Comparação cinética utilizando substratos soro de leite e lactose pura por *K. Lactis*

Baseado nos resultados da Tabela 3 onde a produção de GOS_t por *K. lactis* utilizando soro de leite foi superior à lactose pura, foi realizado o estudo comparativo entre as duas fontes.
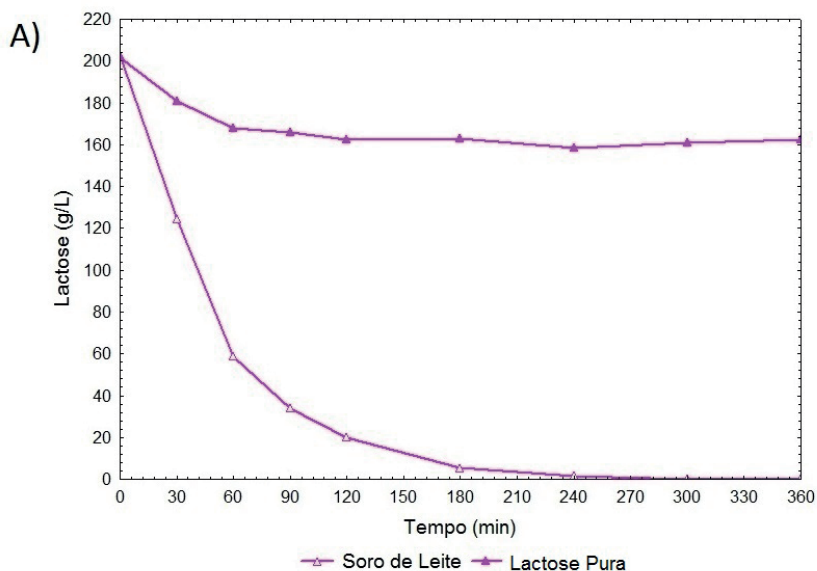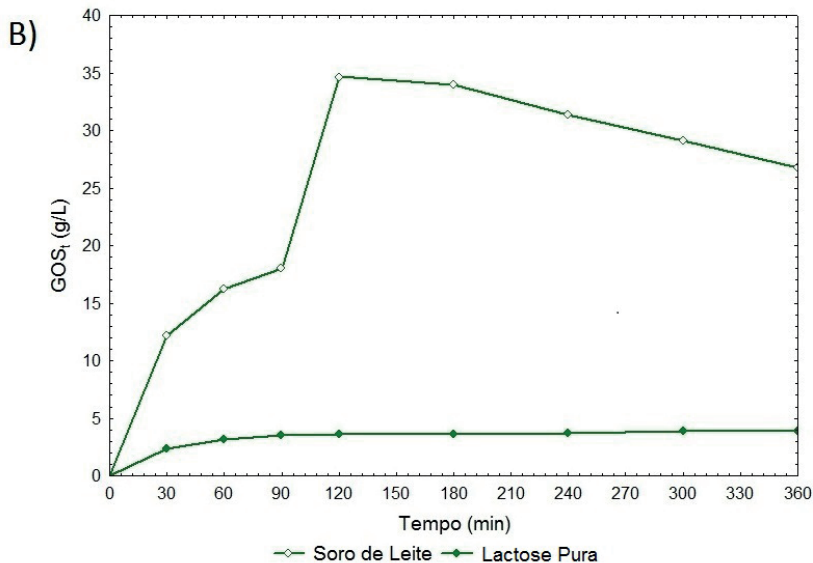
Figura 3. Comparação do consumo de lactose (A) e produção de galactooligossacarídeos totais (B) da ação de β-galactosidase de *Kluyveromyces lactis* sobre os substratos soro de leite e lactose pura.

Quando comparado o perfil cinético da ação da enzima *K. lactis* sobre o soro de leite e a lactose pura (Fig 3A), foi possível observar que a máxima hidrólise da lactose foi após 120 minutos de reação para a lactose pura, convertendo apenas 19.59% da lactose inicial, permanecendo constante até os 360 min de reação. Entretanto, para o mesmo tempo de hidrólise de lactose no soro de leite foi de 90.10%, chegando a 99% de conversão após 240 minutos.

A produção de GOS_t (Fig 3B) permaneceu constante após 60 minutos de reação, aproximadamente 3 g/L de GOS_t, quando se utilizou a lactose pura como substrato, contudo, quando se utilizou soro de leite, a maior produção foi em 120 minutos de reação, chegando a 34.65 g/L de GOS_t. Este resultado, como já discutido, é devido a alta dependência de minerais que atuam como cofatores enzimáticos de *K. lactis*, os quais estão presentes no soro de leite mas ausentes na solução de lactose pura.

CONCLUSÃO

A β-galactosidase de *Kluyveromyces lactis* demonstrou ter alta atividade hidrolítica além de quantidades adequadas de produção de galactooligossacarídeos totais quando usado o soro de leite como substrato. A enzima de *K. lactis* demonstrou ter comportamento diferente nos substratos utilizados, demonstrando ter maior atividade de transgalactosilação no soro de leite quando comparado a lactose pura.

O produto obtido da produção de GOS a partir do soro de leite com enzima β-galactosidase de *K. lactis* mostrou ser uma alternativa de ingrediente em alimentos funcionais com quantidade significativa de GOS e baixo teor de lactose.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa contou com apoio da Universidade do Estado de Minas Gerais - Pesquisador Produtividade da UEMG – PQ/UEMG; Universidade Estadual de Londrina e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERÊNCIAS

AKIYAMA, K., TAKASE, M., HORIKOSHI, K., SHIGEO, O. Production of galactooligosaccharides from lactose using a β-glucosidase from Thermus sp. Z-1. Bioscience, **Biotechnology, and Biochemistry**, v. 65, p. 438-44, 2001.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. official method 2001. 02 trans-Galactooligosaccharides (TGOS)," in Selected Food Products, AOAC International, Gaitl colinas hersburg, Md, USA. 2005.

AOAC. Association of official analytical chemists. Official methods of analysis of the AOAC International. 19 ed. Arlington. 2012.

CARDELLE-COBAS, A., CORZO, N., VILLAMIEL, M., OLANO A. Isomerization of lactose-derived oligosaccharides: a case study using sodium aluminate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** v. 56, p. 10954-10959, 2008.

CHEN, C. S., HSU, C. K., CHIANG, B. H. Optimization of the enzymic process for manufacturing low-lactose milk containing oligosaccharides. **Process Biochemistry**, v. 38, p. 801-808, 2002.

CRUZ, R., CRUZ, V. A., BELOTE, J.G., KHENAYFES, M. O., DORTA, C., OLIVEIRA, L. H. S., ARDILES, E., E GALLI, A. Production of trans-galactosylated oligosaccharides (TOS) by galactosyltransferase activity from *Penicilium simplicissimum*. **Bioresource Technology**., v. 70, p. 165-171, 1999.

DAVID, F. M., COLLAO-SAENZ, E. A., PÉREZ, J. R. O., CASTRO, A.L.A., RESENDE, H. R. A., LANDIM, A.V. Efeito da adição de soro de leite sobre a digestibilidade aparente e os parâmetros sanguíneos de vacas secas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 62, p. 1183-1190, 2010.

DEPEINT, F., TZORTZIS, G., VULEVIC, J., I'ANSON, K., & GIBSON, G. R. Prebiotic evaluation of a novel galactooligosaccharide mixture produced by the enzymatic activity of *Bifidobacterium bifidum* NCIMB 41171, in healthy humans: a randomized, double-blind, crossover, placebo-controlled intervention study1e3. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, p. 785-791, 2008.

DWIVEDI, S., SAHRAWAT, K., PUPPALA, N., ORTIZ, R. Plant prebiotics and human health: Biotechnology to breed prebiotic-rich nutritious food crops. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 17, p. 238–245, 2014.

FAI, A. E. C., SILVA, J. B., ANDRADE, C. J.; BUTION, M.L.; PASTORE, G.M. Production of prebiotic galactooligosaccharides from lactose by *Pseudozyma tsukubaensis* and *Pichia kluyveri*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 03, p. 343-350, 2014.

FISCHER, C., KLEINSCHMIDT, T. Synthesis of galactooligosaccharides using sweet and acid whey as a substrate. **International Dairy Journal**, v. 48, p. 15-22, 2015.

Frenzel, M., Zerge, K., Clawin-Radecker, I., Lorenzen, P. C. Comparison of the galactooligosaccharide forming activity of different β-galactosidases. **LWT- Food Science and Technology**, v. 60, p. 1068-1071, 2015.

GARCÍA-CAYUELA, T., DÍEZ-MUNICIO, M., HERRERO, M. Selective fermentation of potential prebiotic lactosederived oligosaccharides by probiotic bacteria, **International Dairy Journal**, v. 38, p. 11-15, 2014.

GIBSON, G. R., HUTKINS, R., SANDERS, M. E., PRESCOTT, S. L., REIMER, R. A., SALMINEN, S. J., SCOTT, K., STANTON, C., SWANSON, K. S., CANI, P. D., VERBEKE, K., REID, G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491-502, 2017.

GOSLING, A., ALFTRÉN, J., STEVENS, G. W., BARBER, A. R.; KENTISH, S.E., GRAS, S. L. Facile pretreatment of *Bacillus circulans* β-Galactosidase increases the yield of galactosyl oligosaccharides in milk and lactose reaction systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 3366-3372, 2009.

GOSLING, A., STEVENS, G. W., BARBER, A. R., KENTISH, S. E., GRAS, S. L. Recent advances refining galacto-oligosaccharide production from lactose. **Food Chemistry**, v. 121, p. 307- 318, 2010.

HSU, C. A., LEE, S. L., CHOU, C. C. Enzymatic production of galactooligosaccharides by beta-galactosidase from *Bifidobacterium longum* BCRC 15708. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 2225–2230, 2007.

HSU, C. A., YU, R. C., CHOU, C. C. Production of β-galactosidase by Bifidobacteria as influenced by various culture conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v.104, p. 197206, 2005.

INTANON, M., ARREOLA, S.L., PHAM, N. H., KNEIFEL, W., HALTRICH, D., NGUYEN, T. H. Nature and biosynthesis of galacto-oligosaccharides related to oligosaccharides in human breast milk. **FEMS Microbiology Letters**, v. 353, p. 89-97, 2014.

JOVANOVIC-MALINOVSKA, R., KUZMANOVA, S., WINKELHAUSEN, E. Application of ultrasound for enhanced extraction of prebiotic oligosaccharides from selected fruits and vegetables. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, p. 446-453, 2015.

MAHONEY, R. R. Galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: a review. **Food Chemistry**, v. 63, p. 147-154, 1998.

Martinez-Villaluenga, C., Cardelle-Cobas, A., Corzo, N., Olano, A. Study of galactooligosaccharide composition in commercial fermented milks. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 540-544, 2008.

MATEO, C., GRAZU, V., PALOMO, J. M., LOPEZ-GALLEGO, F., FERNANDEZ-LAFUENTE, R., GUISAN, J. M. Immobilization of enzymes on heterofunctional epoxi supports. **Nature Protocols**, v. 2, p. 1022–1032, 2007.

MICHELON, M., MANERA, A. P., CARVALHO, A. L., E FILHO, F. Concentration and purification of galacto-oligosaccharides using nanofiltration membranes. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 1953-1961, 2014.

OTIENO, D. O. Synthesis of β-galactooligosaccharides from lactose using microbial β-galactosidases. **Compr Rev Food Sci Food Saf**., v. 9, p. 471-482, 2010.

PARK, A. R., OH, D. K. Galacto-oligosaccharide production using microbial ß-galactosidase: Current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, p. 1279–1286, 2010.

PETROVA, V.Y., KUJUMDZIEVA, A.V. Thermotolerant yeast strains producers of galactooligosaccharides. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 24, p. 1612-1619, 2010.

RODRIGUEZ-COLINAS, B., POVEDA, A., JIMENEZ-BARBERO, J., BALLESTEROS, A. O., PLOU, F. J. Galacto-oligosaccharide synthesis from lactose solution or skim milk using the β-galactosidase from *Bacillus circulans*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 6391- 6398, 2012.

RODRIGUEZ-COLINAS, B.; FERNANDEZ-ARROJO, L.; BALLESTEROS, A. O.; PLOU, F. J. Galactooligosaccharides formation during enzymatic hydrolysis of lactose: Towards a prebiotic-enriched milk, **Food Chemistry**, v.145, p. 388–394, 2014.

SANTOS, R., SIMIQUELI, A. P. R., PASTORE, G. M. Produção de galactooligossacarídeo por *Scopulariopi*s sp. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v. 29, p. 682-689, 2009.

SCOTT, K. P., GRIMALDI, R., CUNNINGHAM, M., SARBINI, S. R., WIJEYESEKERA, A., TANG, M. L. K., *et al*. Developments in understanding and applying prebiotics in research and practicedan ISAPP conference paper. **Journal of Applied Microbiology**, v.128, pp.934-949, 2020.

TOMAL, A. A. B.; **Produção de galactooligossacarídeos a partir de soro de leite utilizando β-galactosidase de Aspergillus oryzae e Kluyveromyces lactis**. 2015. 116f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Universidade Estadual de Londrina, Londrina- PR. 2015.

URRUTIA, P., RODRIGUEZ-COLINAS, B., FERNANDEZ-ARROJO, L., BALLESTEROS, A. O., WILSON, L., ILLANES, A., PLOU, F. J. Detailed analysis of galacto-oligosaccharides synthesis with b-gal from *Aspergillus oryzae*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 1081-1087, 2013.

WHITE, J.; HEKMAT, S. Development of Probiotic Fruit Juices Using Lactobacillus rhamnosus GR-1 Fortified with Short Chain and Long Chain Inulin Fiber. **Fermentation**, v. 4, n. 27, 2018.

CAPÍTULO 4

POTENCIAL TROMBOLÍTICO DE ENZIMAS MICROBIANAS: UMA ABORDAGEM PROMISSORA PARA O TRATAMENTO DE TROMBOSE

Data de aceite: 01/04/2024

Lillian Maria Baggio
Departamento de Bioquímica e Biotecnologia
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
http://lattes.cnpq.br/8342395413264972

Edna Suzana António Jinga
Departamento de Bioquímica e Biotecnologia
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
http://lattes.cnpq.br/9921798754730508

Hyan Gabriel Barbosa da Costa
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
http://lattes.cnpq.br/8364272149071130

Antonio Carlos da Silva Vieira
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
http://lattes.cnpq.br/7955697812306668

Nubia Natalia Lopes Cardoso
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
http://lattes.cnpq.br/7029365038336595

Cristiani Baldo
Departamento de Bioquímica e Biotecnologia
Universidade Estadual de Londrina
Londrina – PR
http://lattes.cnpq.br/7405984333346151

RESUMO: Doenças cardiovasculares associadas à trombose são uma das principais causas de morte em todo mundo. A uroquinase, estreptoquinase e o ativador do plasminogênio tecidual são os principais agentes trombolíticos utilizados no tratamento da trombose. Esses agentes têm sido utilizados amplamente na clínica médica. Porém, fatores como meias-vidas curtas, custos elevados de produção e complicações hemorrágicas tem impulsionado a busca de compostos mais seguros e economicamente viáveis para o tratamento de doenças cardiovasculares. Neste contexto, as enzimas fibrinolíticas e fibrinogenolíticas secretadas por microrganismos são alternativas promissoras, pois promovem a degradação direta dos trombos e não induzem efeitos colaterais, além de possuírem baixo custo de produção. Neste capítulo, exploraremos o potencial das enzimas fibrinolíticas e fibrinogenolíticas secretadas por microrganismos como alternativas promissoras no tratamento de doenças cardiovasculares associadas à trombose, destacando sua capacidade de degradação direta dos trombos, ausência de efeitos colaterais e custos de produção reduzidos.

PALAVRAS-CHAVE: fermentação, enzimas microbianas, doenças cardiovasculares

ABSTRACT: Cardiovascular diseases associated with thrombosis are one of the main causes of death in the whole world. Urokinase, streptokinase, and tissue plasminogen activator are the major thrombolytic agents used to treat thrombosis. These agents have been widely used in the medical clinic. However, factors such as short half-lives, high production costs and hemorrhagic complications have driven the search for safer and more economically viable compounds for the treatment of cardiovascular diseases. In this way, the fibrinolytic and fibrinogenolytic enzymes secreted by fungi promising alternatives, since they promote the direct degradation of the thrombi and does not induce side effects, besides having a low cost of production. In this chapter, we will explore the potential of fibrinolytic and fibrinogenolytic enzymes secreted by microorganisms as promising alternatives in the treatment of cardiovascular diseases associated with thrombosis, highlighting their ability for direct thrombus degradation, absence of side effects, and reduced production costs.
KEYWORDS: fermentation, microbial enzymes, cardiovascular diseases

INTRODUÇÃO

Enzimas microbianas desempenham um papel significativo na indústria farmacêutica, com destaque para a classe especial das proteases. Estas enzimas possuem a notável capacidade de degradar uma ampla variedade de substratos proteicos com alta especificidade. Enzimas produzidas por processos biotecnológicos apresentam diversas vantagens, tais como alta especificidade, baixa toxicidade, biodegradabilidade, além da obtenção por fontes renováveis. Entre essas enzimas, destacam-se as proteases trombolíticas, que são enzimas capazes de degradar substâncias plasmáticas como fibrina e fibrinogênio, podendo ser utilizadas como estratégia terapêutica no tratamento de doenças cardiovasculares. Assim, o foco deste capítulo é explorar biotecnológico de enzimas fibrinolíticas e fibrinogenolíticas secretadas por microrganismos como alternativas no tratamento de doenças cardiovasculares relacionadas à trombos, destacando suas propriedades biológicas e sustentáveis.

DOENCAS CARDIOVASCULARES

Doenças cardiovasculares são responsáveis causas de óbitos no Brasil, afetando desproporcionalmente pessoas com mais dificuldades em conseguir acesso a cuidados básicos de saúde (OLIVEIRA et al., 2021). No Brasil cerca de 14 milhões de pessoas apresentam algum tipo de doença cardiovascular tais como hipertensão, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio e a fibrilação atrial (STEVENS et al., 2017).

A taxa de mortalidade causada por distúrbios vasculares tais como enfarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, trombose venosa profunda, embolia pulmonar tem crescido significativamente nos últimos anos. Em conjunto, essas doenças causam a morte de pelo menos 400 mil pessoas por ano (SBC, 2021; OLIVEIRA et al., 2021).

Terapias enzimáticas estão se tornando uma alternativa às cirurgias na prática clínica (SUN et al., 2016), e agentes trombolíticos são empregados para dissolver coágulos não hidrolisados (KUNAMNENI, ABDELGHANI, & ELLAIAH, 2007). Os coágulos de sangue, compreendendo na sua maioria coágulos de fibrina, são formados pela conversão do fibrinogênio em fibrina através da ação proteolítica da trombina e podem bloquear os vasos sanguíneos causando a trombose. No entanto, em pessoas saudáveis o sistema de coagulação encontra-se normalmente em estado de equilíbrio dinâmico, em que os coágulos de fibrina são constantemente depositados e dissolvidos. A dissolução dos trombos é chamada fibrinólise, que ocorre por ação de uma enzima chamada plasmina. A plasmina circulante encontra-se na forma de seu zimogênio inativo, o plasminogênio, é ativada a partir de compostos chamados ativadores do plasminogênio. No entanto, quando a fibrina não é hidrolisada, devido aos diferentes distúrbios hemostáticos, tais como doenças trombóticas podem ocorrer (HOLDEN, LAVIGNE, & CAMERON, 1990).

Existem três opções de terapia disponíveis para o tratamento da trombose: anticoagulantes, agentes antiplaquetários e enzimas fibrinolíticas. Os anticoagulantes são agentes químicos capazes de prevenir ou controlar a coagulação sanguínea. A maioria deles atua bloqueando uma ou mais etapas da cascata de coagulação que culmina na formação de fibrina. Alguns fármacos podem atuar também através da inibição da síntese de fatores de coagulação, enquanto outros aumentam a atividade anticoagulante que ocorre naturalmente no sangue ou previnem a formação do tampão plaquetário (ODÉN & FAHLÉN, 2002). Esses fármacos apresentam uma meia-vida reduzida e estão associados à diversos efeitos colaterais como hemorragias, osteoporose, alopecia, trombocitopenia e hipersensibilidade (FITZMAURICE, BLANN, & LIP, 2002). Os agentes antiplaquetários são usados para prevenir a formação do coágulo ou impedir que este se torne maior, provocando a oclusão dos vasos sanguíneos, atuando através da inibição do fator de ativação plaquetária e do colágeno. Porém o uso desses fármacos está associado a condições patológicas como a supressão da medula óssea, em particular à leucopenia (BLANN, LANDRAY, & LIP, 2002).

O fato dos anticoagulantes e agentes antiplaquetários possuírem meia vida curta, efeitos secundários indesejáveis (SIMKHADA et al., 2012), baixa especificidade além de preço elevado no processo produtivo tem motivado pesquisas na busca de compostos mais seguros e economicamente viáveis para o tratamento de doenças cardiovasculares (ERDUR et al., 2014).

ENZIMAS MICROBIANAS

As proteases são uma classe de enzimas com papéis fisiológicos importantes presentes em animais, plantas e microrganismos, já que possuem a função de catalisar, quebrar, as ligações peptídicas presentes nas proteínas. Enzimas fibrinolíticas e fibrinogenolíticas são proteases que catalisam a hidrólise de ligações peptídicas de outras proteínas (GUPTA, BEG, & LORENZ, 2002). As proteases microbianas também têm atraído grande atenção devido seu grande potencial biotecnológico e são muito usadas em preparações farmacêuticas (SOUZA et al., 2015). Essas enzimas representam cerca de 60% das vendas totais de enzimas no mundo (ZAMBARE, NILEGAONKAR, & KANEKAR, 2011).

Há uma vasta diversidade de organismos produtores de enzimas fibrinolíticas. Contudo, têm sido produzidas industrialmente por fungos (SHIRASAKA et al., 2012) e bactérias isolados de alimentos fermentados tradicionais orientais (CHANG et al., 2012).

As proteases podem ser classificadas de acordo com os valores ótimos de pH e incluem as proteases ácidas (pH 2,0 a 6,0), as proteases neutras (pH de 6,0 a 8.0) e as proteases alcalinas (pH 8,0-13,0) (SABOTIC & KOS, 2012). As proteases ácidas de importância comercial são geralmente produzidas por fungos filamentosos e são enzimas extracelulares empregadas na indústria de alimentos e farmacêutica (ALEKSIEVA & PEEVA, 2000). Alguns fungos são considerados GRAS (geralmente reconhecidos como seguros) e eles produzem enzimas extracelulares, que são fáceis de recuperar do caldo fermentado (ZAFERANLOO et al., 2014).

No entanto, a utilização enzimas obtidas por processos biotecnológicos frequentemente é limitada pelo alto custo de produção. Neste contexto, a otimização da produção de enzimas usando substratos de baixo custo tais como resíduos agroindustriais é importante do ponto de vista econômico, já que a matéria-prima representa grande parte dos custos de obtenção de moléculas microbianas (TANG et al., 2015). Nesse cenário, o uso de recursos de resíduos como meio de cultura para a produção de enzimas implica em soluções tecnológicas que auxiliam na gestão de resíduos em diversos setores, proporcionando o desenvolvimento de produtos de interesse nacional com características biodegradáveis e renováveis.

Pesquisas usando agentes trombolíticos diretos têm mostrado resultados encorajadores em testes laboratoriais e em ensaios pré-clínicos (MARDER & NOVOKHATNY, 2010). Nattoquinase, uma das proteases microbianas mais estudadas, é uma enzima fibrinolítica produzida por *Bacillus subtilis*. Esta enzima foi originalmente isolada do natto, um alimento fermentado tradicional japonês e está comercialmente disponível para o tratamento de trombose (FUJITA et al., 1993) e não apenas lisa diretamente os trombos *in vivo*, mas também pode aumentar a atividade fibrinolítica do plasma pelo aumento da atividade do fator de ativação do plasminogênio tecidual (Fujita et al., 1995a; Fujita et

al., 1995b). Desta forma, a nattoquinase pode ser usada para amenizar e tratar diversas patologias associadas aos sistemas cardiovascular e pulmonar, além de reduzir os efeitos graves de doenças como embolia pulmonar, trombose e até pode até realizar a regulação da pressão arterial. Além disso, ela pode prevenir tromboses profundas, aterosclerose e varizes (SOUZA et al., 2021).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A oclusão vascular continua sendo uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Embora numerosos agentes trombolíticos tenham sido identificados e caracterizados a partir de fontes diversas, dados científicos promissores obtidos em estudos in vitro e in vivo não conseguiram se traduzir com sucesso em ensaios clínicos. Portanto, esforços contínuos são necessários na busca por medicamentos trombolíticos mais eficazes, seguros e econômicos. Agentes trombolíticos de origem microbiana representam um passo em direção a uma abordagem potente na prevenção e tratamento de doenças vasculares, como doenças cardiovasculares. Várias enzimas trombolíticas foram relatadas como sendo isoladas de fontes microbianas com aplicação terapêutica em doenças vasculares e demonstraram possuir as seguintes vantagens em relação às estratégias de tratamento atualmente disponíveis: meia-vida plasmática prolongada, maior especificidade pela fibrina, menor resposta alérgica E menor risco de complicações hemorrágicas. Assim, as enzimas trombolíticas e fibrinolíticas isoladas de fontes microbianas poderiam impulsionar novas estratégias terapêuticas para avançar as perspectivas desses complexos de enzimas derivadas de microrganismos no arsenal terapêutico de medicamentos.

REFERÊNCIAS

ALEKSIEVA, P., & PEEVA, L. Investigation of acid proteinase biosynthesis by the fungus *Humicola Lutea* 120-5 in an airlift bioreactor. **Enzyme and Microbial Technology** 26, 402-405, 2000.

BLANN, A.D., LANDRAY, M.J., & LIP, G.Y.H. ABC of antithrombotic therapy: an overview of antithrombotic therapy. **British Medical Journal,** 325(7367), 762-765, 2002.

CHANG, C.T., WANG, P.M., HUNG, Y.F., CHUNG, Y.C. Purification and biochemical properties of a fibrinolytic enzyme from *Bacillus subtilis*-fermented red bean. Food Chemistry, v. 133, n. 4, p. 1611-1617, 2012.

ERDUR, H., SCHEITZ, J.F., TUTUNCU, S., FIEBACH, J.B., ENDRES, M., WERRING, D.J., & NOLTE, C.H. Safety of thrombolysis in patients with acute ischemic stroke and cerebral cavernous malformations, *Stroke*, 45, 1846-1848, 2014.

FITZMAURICE, D.A., BLANN, A.D., & LIP, G.Y.H. Bleeding risks of antithrombotic therapy. **British Medical Journal,** 325(7368), 828-831. 2002.

FUJITA, M., HONG, K., ITO, Y., MISAWA, S., TAKEUCHI, N., KARIYA, K., & NISHIMURO, S. Transport of nattokinase across the rat intestinal tract. ***Biological and Pharmaceutical Bulletin***, 18(9), 1194-1196. 1995a.

FUJITA, M., HONG, K., ITO, Y., FUJII, R., KARIYA, K., & NISHIMURO, S. Thrombolytic effect of nattokinase on a chemically induced thrombosis model in rat. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 18(10), 1387-1391, 1995b.

FUJITA, M., NOMURA, K., HONG, K., ITO, Y., ASADA, A., & NISHIMURO, S. (1993). Purification and Characterization of a Strong Fibrinolytic Enzyme (Nattokinase) in the Vegetable Cheese Natto, a Popular Soybean Fermented Food in Japan**. Biochemical and Biophysical Research Communications**.197(3), 1340-1347.

GUPTA, R., BEG, Q.K., & LORENZ, P. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. **Applied Microbiology Biotechnology**, 59(1), 15-32, 2002.

HOLDEN, G.W., LAVIGNE, V.V., & CAMERON, A.M. Probing the continuum of effectiveness in parent training: Characteristics of parents and preschoolers. **Journal of Clinical Child Psychology**, 19, 2-8. 1990.

KUNAMNENI, A., ABDELGHANI, T.T., & ELLAIAH, P. Streptokinase-the drug of choice for thrombolytic therapy. **Journal of Thrombosis and Thrombolysis**, 23(1), 9-23, 2007.

MARDER, V.J., & NOVOKHATNY, V. (2010). Direct fibrinolytic agents: biochemical attributes, preclinical foundation and clinical potential. **Journal of Thrombosis and Haemostasis,** 8(3), 433-444, 2010.

ODÉN, A., & FAHLÉN, M. Oral anticoagulation and risk of death: a medical record linkage study. **British Medical Journal** (Clinical research ed.), 325(7372), 1073-1075, 2002.

OLIVEIRA, G. M. M. et al. Estatística Cardiovascular – Brasil. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 118, n. 1, 115-373, 2021.

SABOTIC, J., & KOS, J. Microbial and fungal protease inhibitors-current and potential applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 93(4), 1351-1375, 2012.

SHIRASAKA, N., NAITOU, M., OKAMURA, K., KUSUDA, M., FUKUTA, Y., TERASHITA, T. Purification and characterization of a fibrinolytic protease from *Aspergillus oryzae* KSK-3. **Mycoscience**, v. 53, n. 5, p. 354-364, 2012.

SIMKHADA, J.R., CHO S.S., MANDER, P., CHOI, Y.H., & YOO, J.C. (2012). Purification, biochemical properties and antithrombotic effect of a novel *Streptomyces* enzyme on carrageenan-induced mice tail thrombosis model. **Thrombosis Research**, 129(2), 176-182.

SOUZA, P.M., BITTENCOURT, M.A., CAPRARA, C.C., FREITAS, M., ALMEIDA, R.P.C., SILVEIRA, D., MAGALHÃES, P.O. (2015). A biotechnology perspective of fungal proteases. **Brazilian Journal of Microbiology**, 46, 337-346, 2015.

STEVENS W.; BRYCE C.; SEALE B. CHEN C.CHOWDHURY R.; LEAL J.; LARSON H.; WILSON L.BAE J. P.; COX E.; GAZIANO T. A. Os custos das doenças cardíacas no Brasil. **International Journal of Cardiology** , v. 228 , p. 923-929, 2017.

SUN, Z., LIUA, P., CHENG, G., ZHANGA, B., DONGA, W., SUB, X., KONGB, Y. (2016). A fibrinolytic protease AfeE from *Streptomyces* sp. CC5, with potent thrombolytic activity in a mouse model. **International Journal of Biological Macromolecules**, 85, 346-354.

TANG, HB. . XU, Z. XU, C. XU, Z. XU, P. LEI, Y. QIU, J. LIANG, X. FENG. Conversion of agroindustrial residues for high poly(γ-glutamic acid) production by *Bacillus subtilis* NX-2 via solid-state fermentation **Bioresource Technology,** 181 (2015), pp. 351-354.

ZAFERANLOO, B., QUANG, T.D., DAUMOO, S., GHORBANI, M.M., MAHON, P.J., & PALOMBO, E.A. Optimization of protease production by endophytic fungus, *Alternaria alternata*, isolated from an Australian native plant. **World journal of microbiology & biotechnology**, 30(6), 1755-1762, 2014.

ZAMBARE, V., NILEGAONKAR, S., & KANEKAR, P. A novel extracellular protease from *Pseudomonas aeruginosa* MCM B-327: enzyme production and its partial characterization. ***New Biotechnology***, 28(2), 173-181, 2011.

SOBRE O ORGANIZADOR

CLEISEANO EMANUEL DA SILVA PANIAGUA: Técnico em Química pelo Colégio Profissional de Uberlândia (2008), Bacharel em Química pela Universidade Federal de Uberlândia (2010), licenciado em Química (2011) e Bacharel em Química Industrial (2023) pela Universidade de Uberaba, licenciado em Ciências Biológicas (2021) e em Física (2022) pela Faculdade Única. Especialista em Metodologia do Ensino de Química e em Docência do Ensino Superior pela Faculdade JK Serrana em Brasília (2012), especialista em Ensino de Ciências e Matemática pelo Instituto Federal do Triângulo Mineiro (2021), em Ciências Naturais e Mercado de Trabalho pela Universidade Federal do Piauí (2022) e em Química Analítica pela Faculdade Metropolitana do Estado de São Paulo (2024). Mestre (2015) e doutor (2018) em Química Analítica pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Estágio Pós-Doutoral (de maio de 2020 a dezembro de 2023) na UFU com ênfase na aplicação de novos agentes oxidantes para remoção de Contaminantes de Preocupação Emergente (CPE) em efluentes de ETE, utilizando a radiação solar como catalisador. Atuou como Técnico de Laboratório/Química no Instituto Federal de Goiás (junho/2010 até janeiro/2022), instrutor de Formação no Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI) em Minas Gerais e Goiás e químico e responsável técnico pelos laboratórios da Unicesumar/Polo Patrocínio (março/2023 a janeiro/2024). Atualmente, é professor concursado e lotado no Colégio Militar de Araguaína/TO. Atuando nas seguintes linhas de pesquisa: *(i*) Desenvolvimento de novas metodologias para tratamento e recuperação de resíduos químicos;; (*ii*) Desenvolvimento de novas tecnologias avançadas para remoção de CPE em diferentes matrizes aquáticas; (*iii*) Aplicação de processos oxidativos avançados (H_2O_2/UV-C, TiO_2/UV-A e foto-Fenton e outros) para remoção de CPE em efluentes de estação de tratamento de efluentes para reuso; (i*v*) Estudo e desenvolvimento de novos bioadsorventes para remediação ambiental de CPE em diferentes matrizes aquáticas; (*v)* Educação Ambiental e; (*vii*) alfabetização científica e processos de alfabetização na área de Ciências da Natureza, em especial biologia e química. É membro do corpo editorial da Atena Editora desde 2021 e já organizou mais de 75 e-books e publicou 40 capítulos de livros nas diferentes áreas de Ciências da Natureza, Engenharia Química e Sanitária/Ambiental, Meio ambiente dentre outras áreas afins.

ÍNDICE REMISSIVO

A

B

C

D

E

F

R

S

T

QUÍMICA E BIOQUÍMICA:

fundamentos e aplicações 2

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Ano 2024

QUÍMICA E BIOQUÍMICA:

fundamentos e aplicações 2

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Ano 2024